



# TESIS DE DOCTORADO

## ENFERMEDAD DE CHARCOT-MARIE-TOOTH: CARACTERIZACIÓN CLÍNICA, ELECTROFISIOLÓGICA Y MOLECULAR EN POBLACIÓN GALLEGA

Tania García Sobrino

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL  
PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN  
MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2021







## DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

### **Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth: caracterización clínica, electrofisiológica y molecular en población Gallega**

Dña. Tania García Sobrino

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
- 2) En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
- 3) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.
- 4) Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.

En Santiago de Compostela a 15 de febrero de 2021

Firma electrónica

Fdo. Tania García Sobrino





## AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth:  
caracterización clínica, electrofisiológica y molecular  
en población Gallega**

D. Jose Castillo Sánchez  
D. Julio Pardo Fernández.

### INFORMAN:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D<sup>a</sup>. Tania García Sobrino, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, a 15 de febrero, de 2021.

Fdo. Jose Castillo Sanchez

Fdo. Julio Pardo Fernández





## AUTORIZACIÓN DEL TUTOR DE LA TESIS

**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth:  
caracterización clínica, electrofisiológica y molecular  
en población Gallega**

D. Julio Pardo Fernández

INFORMA:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D<sup>a</sup>. Tania García Sobrino, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando/a fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, a 15 de febrero, de 2021.

Firma electrónica

Fdo. Julio Pardo Fernández





## **DECLARACIÓN CONFLICTO DE INTERES**

**Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth:  
caracterización clínica, electrofisiológica y molecular  
en población Gallega**

Dña. Tania García Sobrino

Declaro que no existe ningún conflicto de interés económico ni de otra índole en relación con este estudio.

En Santiago de Compostela, a 15 de febrero de 2021

**Firma electrónica**

Fdo. Tania García Sobrino





## AGRADECIMIENTOS

A mis directores, por su ayuda, consejos, apoyo y colaboración. Gracias a Julio por ser mi tutor y director de tesis y compartir conmigo su conocimiento sobre las enfermedades Neuromusculares. No podía haber tenido un mejor maestro.

A mis compañeros del servicio de Neurología y neurólogos de las diferentes Gerencias de Gestión por colaborar en la identificación de casos.

Al grupo de Neurogenética de la FPGMX, a Patricia, Susi Sobrido y Bea Quintans por su colaboración.

A Natalia, Pachi y Anabel por ayudarme siempre desinteresadamente y por esos momentos de “ciencia” compartidos a lo largo de estos años.

A Tere y a Juan, por permitirme compartir con ellos un pequeño periodo de mi formación, por sus enseñanzas y sus consejos.

A José María Prieto, por haberme ofrecido la oportunidad de continuar creciendo y formándome en la unidad de Neuromuscular del Hospital Clínico de Santiago de Compostela.

A los pacientes con CMT por colaborar y participar en este estudio.

A mi familia y amigos por sus consejos y apoyo.

A Gabriel por su enorme paciencia, trabajo y comprensión a lo largo de todos estos años que compartimos juntos.

A Rubén por ser mi motivación.



## RESUMEN

### **INTRODUCCIÓN:**

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es la neuropatía hereditaria más frecuente, con una prevalencia de 28 casos/100.000 habitantes. CMT es uno de los síndromes neurodegenerativos más complejos, con más de 80 genes identificados. El abordaje de este síndrome debe partir de un adecuado estudio clínico, genealógico y neurofisiológico que permita establecer un fenotipo de CMT y orientar el diagnóstico molecular.

### **OBJETIVO:**

Analizar la epidemiología genética de CMT en Galicia.

Realizar una descripción fenotípica, electrofisiológica y molecular de la población con CMT en Galicia.

Proponer un protocolo de diagnóstico genético para su aplicación en la práctica clínica.

### **MÉTODO:**

Estudio descriptivo de CMT en población adulta (>18 años) en Galicia. Se incluyen pacientes con diagnóstico de CMT y seguimiento clínico en el servicio de Neurología de las diferentes Gerencias de Gestión Integrada de Galicia.

### **RESULTADOS:**

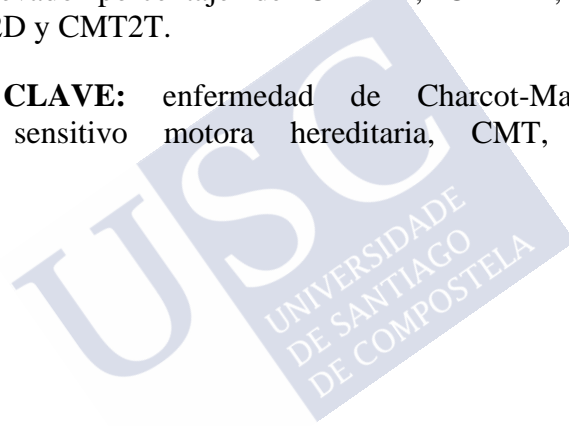
Identificamos 232 casos de CMT en Galicia (142 familias). La prevalencia de CMT fue de 10 casos/100.000 habitantes. La prevalencia de CMT desmielinizante fue de 6 casos/100.000 habitantes y para CMT axonal 3 casos/100.000 habitantes. El 60% de los casos mostró una herencia autosómica dominante (AD) y un 35% una herencia autosómica recesiva (AR) o fueron casos esporádicos. La causa más frecuente de CMT fue CMT1A (57%). Otras causas de CMT identificadas fueron CMTX1 (9%), CMT1B (7%), CMT2A (6%) y CMT2K (6%). Las formas desmielinizantes de CMT se

agruparon en CMT1A (75%), CMT1B (9.2%), CMT4G (4%) y CMT1D (4%). En CMT2 observamos una amplia heterogeneidad clínica y genética, resultando CMT2A (26%), CMT2K (26%), CMTX1 (26%), mutaciones en *BSCL2* (13%) y CMT2T (5.3%) las causas más frecuentes. Alcanzamos el diagnóstico molecular en el 93% de CMT desmielinizante y en un 47.5% de CMT axonal.

### **CONCLUSIONES:**

La epidemiología de CMT en Galicia muestra un patrón de distribución similar al observado en otras Comunidades Autónomas. Destacamos un elevado porcentaje de casos de herencia AR o casos esporádicos; elevado porcentaje de CMT1A, CMT1D, CMT2A, CMT2K, CMT2D y CMT2T.

**PALABRAS CLAVE:** enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, polineuropatía sensitivo motora hereditaria, CMT, CMT1A, prevalencia.



## RESUMO

### **INTRODUCCIÓN:**

A enfermidade de Charcot-Marie-Tooth (CMT) é a neuropatía hereditaria máis frecuente, cunha prevalencia de 28 casos/100.000 habitantes. CMT é unha das síndrome neurodaxerativas máis complexas, con máis de 80 xenes atopados. O abordaxe desta síndrome debe comezar con un axeitado estudo clínico, xenealóxico e neurofisiolóxico que permita establecer un fenotipo de CMT e orientar o diagnóstico molecular.

### **OBXECTIVO:**

Analizar a epidemioloxía xenética da CMT en Galicia.

Realizar unha descripción fenotípica, electrofisiolóxica e molecular da poboación con CMT en Galicia.

Propoñer un protocolo de diagnóstico xenético para a súa aplicabilidade na práctica clínica.

### **MÉTODO:**

Estudo descriptivo da CMT na poboación adulta (>18 anos) en Galicia. Incluíronse doentes con diagnóstico de CMT e seguimento clínico no servizo de Neuroloxía das diferentes Xerencias de Xestión Integrada de Galicia.

### **RESULTADOS:**

Atopamos 232 casos de CMT en Galicia (142 familias). A prevalencia de CMT foi de 10 casos/100.000 habitantes. A prevalencia de CMT desmielinizante foi de 6 casos/100.000 habitantes e na CMT axonal 3 casos/100.000 habitantes. O 60% mostrou unha herencia AD e un 35% unha herencia AR ou foron casos esporádicos. A causa máis frecuente da CMT foi CMT1A (57%). Outras causas da CMT foron CMTX1 (9%), CMT1B (7%), CMT2A (6%) e CMT2K (6%). As formas desmielinizantes de CMT agrupáronse en CMT1A (75%), CMT1B (9.2%), CMT4G (4%) e CMT1D (4%). CMT2 foi unha síndrome

heteroxénea, resultando CMT2A (26%), CMT2K (26%), CMTX1 (26%), mutacións en *BSCL2* (13%) e CMT2T (5.3%) as etioloxías máis frecuentes. Alcanzamos o diagnóstico molecular no 93% de CMT desmielinizantes e nun 47.5% de CMT axonal.

### **CONCLUSIÓNS:**

A epidemioloxía de CMT en Galicia mostra un patrón de distribución similar o atopado noutras Comunidades Autónomas. Destacamos un elevado porcentaxe de casos de herencia AR ou casos esporádicos; elevado porcentaxe de CMT1A, CMT1D, CMT2A, CMT2K, CMT2D e CMT2T.

**PALABRAS CLAVE:** enfermidade de Charcot-Marie-Tooth, polineuropatía sensitivo motora hereditaria, CMT, CMT1A, prevalencia.



## ABSTRACT

### INTRODUCTION:

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is the most frequent hereditary neuropathy, with a prevalence of 28 cases/100.000. CMT is one of the most complex neurodegenerative syndrome, with more than 80 genes identified. The approach to this syndrome must start from an adequate clinical, genealogical and neurophysiological study that allows establishing a CMT phenotype and to guide the molecular diagnosis.

### OBJECTIVE:

To analyze the genetic epidemiology of CMT in Galicia.  
Conduct a phenotypic, electrophysiological and molecular description of the population with CMT in Galicia.  
Propose a genetic diagnosis protocol for its application in clinical practice.

### METHODS:

Descriptive study of CMT (>18 years) in Galicia. Patients with CMT diagnosis and a clinical follow-up in the Neurology department of the different Integrated Management Departments of Galicia are included.

### RESULTS:

We identified 232 cases of CMT in Galicia (142 families). The prevalence of CMT was 10 cases/100.000. The prevalence of demyelinating CMT was 6 cases/100.000 and for axonal CMT was 3 cases/100000. Regarding the inheritance pattern, 60% were considered as AD and 35% as AR or sporadic cases. The most frequent causes of CMT were CMT1A (57%). Other causes of CMT were CMTX1 (9%), CMT1B (7%), CMT2A (6%) and CMT2K (6%). The demyelinating forms of CMT were associated with CMT1A (75%), CMT1B (9.2%), CMT4G (4%) and CMT1D (4%). CMT2 was a heterogeneous syndrome, with CMT2A (26%), CMT2K (26%), CMTX1 (26%), *BSC2* mutations (13%) and CMT2T (5.3%) being

the most frequent causes. The causative mutation was detected in 93% of patients with demyelinating CMT and in 47.5% of axonal CMT.

**CONCLUSIONS:**

The epidemiology of CMT in Galicia shows a distribution pattern similar to that observed in other regions. It should be noted that we identify a high prevalence of AR or sporadic inheritance pattern and a frequent diagnosis of CMT1A, CMT1D, CMT2A, CMT2K, CMT2D and CMT2T.

**KEYWORDS:** Charcot-Marie-Tooth disease, hereditary motor and sensory neuropathy, CMT, CMT1A, prevalence.





## ABREVIATURAS

<b>AD:</b>	herencia autosómica dominante
<b>AR:</b>	herencia autosómica recesiva
<b>ADN:</b>	ácido desoxirribunucleico
<b>AME:</b>	atrofia muscular espinal
<b>ATP:</b>	adenosin trifosfato
<b>CMAP:</b>	potencial de acción muscular compuesto
<b>CMT:</b>	Charcot-Marie-Tooth
<b>CMTES:</b>	<i>CMT Examination Score</i>
<b>CMTNS:</b>	<i>CMT Neuropathy score</i>
<b>NHMD:</b>	neuropatía hereditaria motora distal
<b>EEII:</b>	extremidades inferiores
<b>EES:</b>	extremidades superiores
<b>ENMG:</b>	electroneuromiograma
<b>ENG:</b>	electroneurografía
<b>EMG:</b>	electromiografía
<b>FDS:</b>	<i>Functional Disability Scale</i>
<b>GGI:</b>	Gerencia de Gestión Integrada
<b>LD:</b>	latencia distal
<b>NHMS:</b>	neuropatía hereditaria motora y sensitiva
<b>NHPP:</b>	neuropatía hereditaria con parálisis por presión
<b>NHSA:</b>	neuropatía hereditaria sensitiva y autonómica
<b>mARN:</b>	ácido ribonucleico mensajero

<b>MLPA:</b>	<i>Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>
<b>NGS:</b>	<i>Next Generation Sequencing</i>
<b>NHC:</b>	neuropatía hipomielinizante congénita
<b>ONLS:</b>	<i>Overall Neuropathy Limitations Score</i>
<b>PCR:</b>	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
<b>PSE:</b>	potencial sensitivo evocado
<b>RCP:</b>	reflejo cutáneoplantar
<b>RM:</b>	resonancia magnética
<b>SDS:</b>	síndrome Déjerine-Sottas
<b>SNC:</b>	sistema nervioso central
<b>SNP:</b>	sistema nervioso periférico
<b>STIR:</b>	<i>Short T1 Inversion Recovery</i>
<b>VB:</b>	variante benigna
<b>VCN:</b>	velocidad de conducción nerviosa
<b>VCNM:</b>	velocidad de conducción nerviosa motora
<b>VCNMM:</b>	velocidad de conducción nerviosa motora de nervio mediano
<b>VCNS:</b>	velocidad de conducción nerviosa sensitiva
<b>VP:</b>	variante patogénica
<b>VPB:</b>	variante probablemente benigna
<b>VPP:</b>	variante probablemente patogénica
<b>VP/VPP:</b>	variante patogénica o probablemente patogénica
<b>VSD:</b>	variante de significado desconocido
<b>WES:</b>	<i>whole-exome sequencing</i>
<b>WGS:</b>	<i>whole-genome sequencing</i>

## ÍNDICE

Agradecimientos .....	11
Resumen .....	13
Resumo .....	15
Abstract.....	17
Abreviaturas .....	19
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>31</b>
1 EL NERVI PERIFÉRICO.....	33
2 NEUROPATÍAS PERIFÉRICAS .....	36
2.1 Definición y etiopatogenia.....	36
2.2 Neuropatías hereditarias .....	38
3 ENFERMEDAD DE CHARCOT-MARIE-TOOTH .....	44
3.1 Antecedentes históricos .....	44
3.2 Manifestaciones clínicas.....	47
3.3 Clasificación actual de CMT .....	49
3.4 Mecanismos estiotogénicos .....	53
3.5 Relación genotipo - fenotipo .....	76
3.6 Epidemiología de CMT .....	102
3.7 Diagnóstico de CMT .....	115
3.7.1 Diagnóstico clínico .....	115
3.7.2 Diagnóstico molecular .....	116
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>123</b>
1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	125
2 OBJETIVOS .....	126

<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>129</b>
1 POBLACIÓN A ESTUDIO .....	131
1.1 Estructura sanitaria.....	131
1.2 Reclutamiento de los pacientes .....	132
1.3 Criterios de inclusión y exclusión.....	132
2 VARIABLES ANALIZADAS.....	134
3 ANALISIS ESTADÍSTICO .....	140
4 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES .....	141
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>145</b>
1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS .....	147
1.1 Población con CMT: edad, sexo y fenotipo.....	147
1.2 Area de procedencia.....	150
1.3 Atención clínica en las GGI de Galicia.....	150
2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS .....	151
2.1 Edad de inicio .....	151
2.2 Tiempo de evolución.....	153
2.3 Síntomas y signos de CMT .....	153
2.4 Gravedad clínica .....	156
2.5 Patrón de herencia.....	158
2.6 Estudio de conducción nerviosa.....	160
3 PREVALENCIA DE CMT EN GALICIA.....	163
4 ESTUDIO MOLECULAR.....	165
4.1 Evolución del estudio molecular.....	166
4.2 Estudio molecular en CMT desmielinizante.....	168
4.3 Estudio molecular en CMT axonal .....	169
4.4 Estudio molecular en CMT intermedio.....	171
4.5 Estudio molecular en CMT con ENMG no concluyente .	172
4.6 Tipos de CMT identificados en Galicia .....	173

4.7 Rendimiento diagnóstico .....	174
5 RELACIÓN GENOTIPO - FENOTIPO .....	176
5.1 CMT desmielinizante ad (CMT1) .....	179
5.1.1 CMT1A: duplicación del cromosoma 17 y mutaciones puntuales en el gen <i>PMP22</i> .....	179
5.1.2 CMT1B: mutaciones en el gen <i>MPZ</i> .....	184
5.1.3 CMT1C: mutaciones en el gen <i>LITAF</i> .....	186
5.1.4 CMT1D: mutaciones en el gen <i>EGR2</i> .....	187
5.1.5 CMT1F: mutaciones en el gen <i>NEFL</i> .....	189
5.2 CMT desmielinizante AR (CMT4) .....	190
5.2.1 CMT4G: mutaciones en el gen <i>HK1</i> .....	190
5.2.2 CMT4C: mutaciones en el gen <i>SH3TC2</i> .....	191
5.3 CMT2 axonal AD (CMT2).....	191
5.3.1 CMT2A: mutaciones en el gen <i>MFN2</i> .....	191
5.3.2 CMT2D: mutaciones en el gen <i>BSCL2</i> .....	192
5.3.3 CMT2E: mutaciones en el gen <i>NEFL</i> .....	198
5.3.4 CMT2I: mutaciones en el gen <i>MPZ</i> .....	199
5.3.5 CMT2K: mutaciones en el gen <i>GDAP1</i> .....	204
5.3.6 CMT2Z: mutaciones en el gen <i>MORC2</i> .....	215
5.4 CMT2 axonal AR (ARCMT2) .....	217
5.4.1 CMT2T: mutaciones en el gen <i>MME</i> .....	217
5.5 CMT ligado al cromosoma X .....	224
5.5.1 CMTX1: mutaciones en el gen <i>GJB1</i> .....	224
5.6 Variantes de significado desconocido .....	227
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>229</b>
1 PREVALENCIA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-DEMOGRÁFICAS..	231
2 ESTUDIO MOLECULAR .....	234
3 RELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO .....	239
4 ALGORITMOS DIAGNÓSTICO .....	248
5 FORTALEZAS Y LIMITACIONES.....	251
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>255</b>

<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>259</b>
ANEXO I: Comunicaciones.....	293
ANEXO II: Publicaciones.....	299
ANEXO III: Cuaderno recogida de datos .....	329
ANEXO IV: Dictamen comité ética .....	333



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Polineuropatías: clasificación etiológica .....	37
Tabla 2. Neuropatías Hereditarias Complejas .....	39
Tabla 3. Clasificación actual de CMT .....	51
Tabla 4. Clasificación etiopatogénica de CMT .....	74
Tabla 5. Prevalencia de CMT en europa .....	114
Tabla 6. Epidemiología de CMT .....	114
Tabla 7. Epidemiología molecular de CMT .....	114
Tabla 8. Escalas de gravedad clínica .....	135
Tabla 9. Población con CMT en Galicia: edad, sexo .....	147
Tabla 10. CMT en Galicia por grupos de edad .....	148
Tabla 11. Fenotipos de CMT en Galicia.....	148
Tabla 12. Fenotipos de CMT por grupos de edad (31/12/2018).....	149
Tabla 13. Procedencia de la población con CMT.....	150
Tabla 14. Síntomas referidos por los pacientes con CMT.....	154
Tabla 15. Signos identificados en CMT .....	155
Tabla 16. Gravedad clínica de CMT .....	157
Tabla 17. VCNM según fenotipo de CMT .....	162
Tabla 18. Prevalencia de CMT en Galicia a 31/12/2018.....	163
Tabla 19. Prevalencia por grupos etarios.....	163
Tabla 20. Prevalencia por provincias 31/12/2018 .....	164
Tabla 21. Estudio molecular de CMT en Galicia .....	165
Tabla 22. Estudio molecular en CMT desmielinizante .....	169
Tabla 23. Estudio molecular en CMT axonal.....	170
Tabla 24. CMT axonal: VSD identificadas .....	171

Tabla 25. Estudio molecular en CMT intermedio.....	172
Tabla 26. Estudio molecular CMT con ENMG NC.....	172
Tabla 27. Fenotipos de CMT identificados con VP.....	173
Tabla 28. Fenotipos de CMT identificados con VSD.....	173
Tabla 29. Edad de inicio: rendimiento diagnóstico.....	175
Tabla 30. CMT1A y mutaciones puntuales en <i>PMP22</i> .....	179
Tabla 31. CMT1A: hallazgos ENMG F48.....	181
Tabla 32. Mutación <i>PMP22</i> : hallazgos ENMG F58, F59.....	184
Tabla 33. CMT1B ( <i>MPZ</i> ): datos demográficos y clínicos.....	184
Tabla 34. CMT1B ( <i>MPZ</i> ): hallazgos enmg F80 .....	186
Tabla 35. CMT1C ( <i>LITAF</i> ): datos demográficos y clínicos .....	186
Tabla 36. CMT1D ( <i>EGR2</i> ): datos demográficos y clínicos.....	187
Tabla 37. CMT1D ( <i>EGR2</i> ): hallazgos enmg F60 .....	189
Tabla 38. CMT1F ( <i>NEFL</i> ): datos demográficos y clínicos .....	189
Tabla 39. CMT4G ( <i>HK1</i> ): datos demográficos y clínicos .....	190
Tabla 40. CMT4C ( <i>SH3TC2</i> ): datos demográficos y clínicos.....	191
Tabla 41. CMT2A ( <i>MFN2</i> ): datos demográficos y clínicos .....	192
Tabla 42. CMT2D ( <i>BSCL2</i> ): familia relevante.....	197
Tabla 43. CMT2D ( <i>BSCL2</i> ): hallazgos ENMG F95.....	198
Tabla 44. CMT2E ( <i>NEFL</i> ): datos demográficos y clínicos .....	198
Tabla 45. CMT2I ( <i>MPZ</i> ): datos demográficos y clínicos .....	199
Tabla 46. CMT2I ( <i>MPZ</i> ): familias relevantes.....	203
Tabla 47. CMT2I ( <i>MPZ</i> ): hallazgos ENMG F85.....	203
Tabla 48. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): datos demográficos y clínicos.....	204
Tabla 49. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): familias relevantes .....	207
Tabla 50. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): hallazgos ENMG.....	208
Tabla 51. CMT2Z ( <i>MORC2</i> ): hallazgos enmg F129 .....	217



Tabla 52. CMT2T ( <i>MME</i> ): datos demográficos y clínicos .....	217
Tabla 53. CMT2T ( <i>MME</i> ): hallazgos ENMG F94, F101 .....	223
Tabla 54. CMTX1 ( <i>GJB1</i> ): datos demográficos y clínicos .....	225
Tabla 55. Variantes de significado desconocido .....	228





## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del nervio periférico.....	34
Figura 2. Charcot, Marie y Tooth.....	45
Figura 3. Deformidades esqueléticas en CMT.....	48
Figura 4. Mecanismos etiopatogénicos de CMT.....	73
Figura 5. CMT: signos y síntomas asociados.....	77
Figura 6. CMT: signos y síntomas en la región craneal.....	78
Figura 7. Evolución molecular de CMT.....	121
Figura 8. CMT en Galicia: grupos etarios.....	149
Figura 9. Atención clínica en las GGI de Galicia.....	151
Figura 10. CMT en Galicia: edad de comienzo.....	152
Figura 11. CMT en Galicia: gravedad.....	157
Figura 12. CMT en Galicia: patrón de herencia.....	159
Figura 13. Patrón de herencia segun fenotipo CMT.....	160
Figura 14. CMT en Galicia: patrón electrofisiológico.....	160
Figura 15. CMT en Galicia: fenotipo electrodiagnóstico.....	161
Figura 16. CMT en Galicia: VCNMM.....	162
Figura 17. Prevalencia de CMT por grupos etarios.....	164
Figura 18. Patogenicidad de las variantes identificadas.....	166
Figura 19. CMT en Galicia: evolución del diagnóstico molecular ..	167
Figura 20. CMT en Galicia: evolución del diagnóstico molecular de VP/VPP.....	168
Figura 21. Fenotipo De CMT: Rendimiento Dagnóstico.....	174
Figura 22. Patrón de herencia: rendimiento diagnóstico.....	175
Figura 23. Fenotipo de CMT y escala funcional (FDS).....	176

Figura 24. Fenotipo de CMT y escala CMTNS/CMTES.....	177
Figura 25. Fenotipo de CMT y gravedad clínica .....	177
Figura 26. Fenotipo de CMT y patrón de herencia.....	178
Figura 27. Fenotipo de CMT y VCNMM.....	178
Figura 28. CMT1A: árbol genealógico F48.....	181
Figura 29. Mutación PMP22: árbol genealógico F58.....	183
Figura 30. CMT1B ( <i>MPZ</i> ): árbol genealógico F80 .....	186
Figura 31. CMT4G ( <i>HK1</i> ): deformidades esqueléticas .....	190
Figura 32. CMT2D ( <i>BSCL2</i> ): árbol genealógico F95.....	193
Figura 33. CMT2I ( <i>MPZ</i> ): árbol genealógico F85.....	203
Figura 34. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): electroferogramas .....	210
Figura 35. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): arbol genealógico familia a.....	211
Figura 36. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): arbol genealógico familia b .....	211
Figura 37. CMT2K ( <i>GDAP1</i> ): biopsia de nervio sural.....	212
Figura 38. CMT2K: caracterización de la variante <i>GDAP1</i> -Arg226del213	
Figura 39. CMT2Z ( <i>MORC2</i> ): árbol genealógico F129 .....	216
Figura 40. CMT2T ( <i>MME</i> ): deformidades esqueléticas F94.....	219
Figura 41. CMT2T ( <i>MME</i> ): RMN músculo F94 .....	220
Figura 42. CMT2T ( <i>MME</i> ): árbol genealógico F94 .....	221
Figura 43. CMT2T ( <i>MME</i> ): árbol genealógico F101 .....	222
Figura 44. CMTX1 ( <i>GJB1</i> ): árbol genealógico F112 .....	227
Figura 45. Algoritmo diagnóstico CMT desmielinizante .....	248
Figura 46. Algoritmo diagnóstico CMT axonal.....	249
Figura 47. Algoritmo diagnóstico CMT intermedio .....	249

# INTRODUCCIÓN



## 1 EL NERVIOS PERIFÉRICO

El sistema nervioso periférico (SNP) está formado por las raíces espinales motoras y sensitivas, los ganglios raquídeos y vegetativos, los plexos nerviosos, los nervios periféricos, la unión neuromuscular y los músculos. El nervio periférico es la estructura encargada de conducir el impulso nervioso entre los órganos periféricos y el sistema nervioso central. Está constituido por tejido conectivo, vasos sanguíneos y fibras nerviosas. Las fibras nerviosas según su función se dividen en motoras, sensitivas y vegetativas. Los nervios periféricos se clasifican en nervios motores, sensitivos o mixtos. La inmensa mayoría de los nervios periféricos son nervios mixtos y, por tanto, conducen estímulos aferentes (fibras sensitivas) así como estímulos eferentes (fibras motoras).

El nervio periférico está constituido por la agrupación de varias fibras nerviosas en forma de fascículos y rodeado por una membrana que actúa de pared limitante (epineuro). Cada fascículo está rodeado por tejido conectivo que proporciona protección, elasticidad y hace de barrera hemática (perineuro). Las fibras nerviosas están constituidas por la prolongación del cuerpo neuronal o axón y las células de Schwann, rodeadas por tejido conectivo (endoneuro).

FIGURA 1. ESTRUCTURA DEL NERVIIO PERIFÉRICO

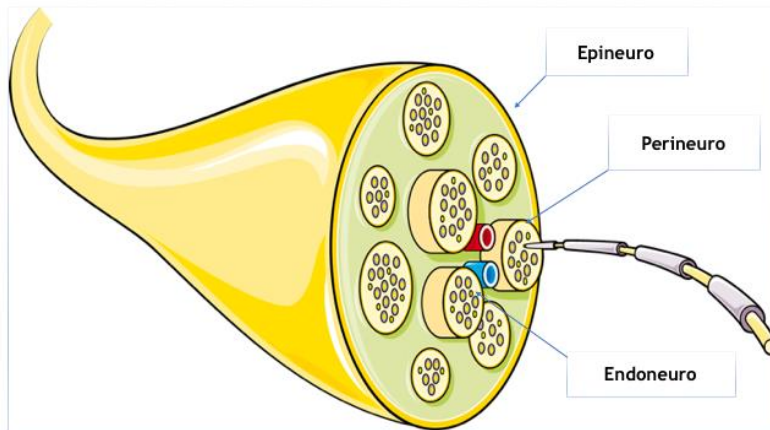


Figura elaborada a partir de un banco público de imágenes (Servier).

En función de la relación entre la fibra nerviosa y la célula de Schwann se distinguen dos tipos de fibras, fibras mielínicas y fibras amielínicas. Las fibras mielínicas son fibras de diámetro mediano o grande, se encargan de conducir la sensibilidad al tacto, presión, propiocepción, porción aferente de los reflejos musculares y los impulsos motores. Las fibras amielínicas de menor diámetro se encargan de conducir la sensibilidad algésica, temperatura y funciones autonómicas. Durante el proceso de mielinización la célula de Schwann rodea en forma de espiral al axón depositando múltiples capas de mielina. En las fibras amielínicas, cada célula de Schwann envuelve varios axones, sin formar mielina. En las fibras mielínicas cada célula de Schwann envuelve un segmento de 1 a 3 mm aproximadamente, a lo largo del axón (una célula de Schwann, un axón). Entre dos células de Schwann sucesivas permanece una pequeña zona de axón expuesta de 2 a 3  $\mu\text{m}$ , es el nodo de Ranvier. Una célula de Schwann, la vaina de



mielina, abarca lo que separa dos nodos, espacio que se llama internodo. Los potenciales de acción sólo se pueden producir en el nodo de Ranvier, de forma que, la función principal de la vaina de mielina es aumentar la velocidad de conducción (conducción saltatoria). Sin embargo, la vaina de mielina también aísla los axones del exterior, proporciona soporte trófico al axón y es clave en los procesos de regeneración del nervio tras una lesión [1].

En la vaina de mielina se diferencian dos regiones, la mielina compacta y la mielina no compacta, constituidas por proteínas específicas. La mielina compacta (el internodo) contiene proteínas estructurales como la proteína de la mielina periférica 22 (PMP22), la proteína cero de la mielina ( $P_0$ ) y la proteína básica de la mielina (MBP). La región no compacta, a su vez, se puede dividir en dos dominios contiguos pero con estructura molecular y funciones específicas (el paranodo y el yuxtaparanodo). El paranodo es la zona contigua al nodo de Ranvier donde encontramos diversas proteínas como la conexina 32 (Cx32), la glicoproteína asociada a la mielina (MAG), la isoforma 155 de la neurofascina (NF155) y el complejo formado por contactin-1 (CNTN1) y *contactin-associated protein-1* (CASPR1). La región yuxtaparanodal, contigua al paranodo, contiene una alta densidad de canales de potasio dependientes de voltaje, contactin-2 (TAG-1) y *contactin-associated protein 2* (CASPR2) [2–4].

Mutaciones en genes que implican procesos biológicos en la célula de Schwann o en el axón dan lugar a una alteración en la función o en la estructura del nervio periférico y causan neuropatías periféricas hereditarias.

## 2 NEUROPATÍAS PERIFÉRICAS

### 2.1 DEFINICIÓN Y ETIOPATOGENIA

Las enfermedades del nervio periférico se conocen por el término de neuropatías periféricas. Cuando el daño de diversos nervios periféricos se produce de forma sincrónica, simétrica y difusa se denominan polineuropatías. La clínica de las polineuropatías se caracteriza por una combinación de alteraciones sensitivas, motoras y/o autonómicas de forma simétrica y con mayor afectación distal.

El diagnóstico etiológico de las neuropatías periféricas engloba una extensa lista de entidades (tabla 1). En el 75% de los casos, un abordaje sistemático basado en la historia clínica, exploración física y hallazgos del electroneuromiograma, el cual permite clasificar las neuropatías en axonales o desmielinizantes, posibilita alcanzar un diagnóstico etiológico. A pesar de esto, hasta en un 25% de los casos no se encuentra la causa de la neuropatía tras un estudio exhaustivo. Se cree que un 30% de estas polineuropatías de etiología no conocida son de causa genética [5–8].

TABLA 1. POLINEUROPATIAS: CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA

CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LAS POLINEUROPATÍAS	
<b>POLINEUROPATÍAS METABÓLICAS Y NUTRICIONALES</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diabetes mellitus</li> <li>• Hipotiroidismo</li> <li>• Insuficiencia renal</li> <li>• Insuficiencia hepática</li> <li>• Déficit de vitamina B</li> </ul>
<b>POLINEUROPATIAS TÓXICAS</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neuropatía ética</li> <li>• Fármacos</li> <li>• Tóxicos industriales o ambientales</li> </ul>
<b>POLINEUROPATÍA INMUNOLÓGICA</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Síndrome de Guillain-Barré</li> <li>• Polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica</li> <li>• Neuropatía vasculítica</li> </ul>
<b>POLINEUROPATÍA INFECCIOSA</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lepra</li> <li>• Enfermedad de Lyme (Borrelia)</li> <li>• Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)</li> <li>• Virus herpes zoster</li> <li>• Otras (Brucella, Sífilis, Botulismo, Difteria, Tuberculosis)</li> </ul>
<b>ClasificaciPOLINEUROPATÍAS ASOCIADAS A PARAPROTEINEMIAS</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amiloidosis sistémica primaria</li> <li>• Mieloma múltiple</li> <li>• Mieloma osteoesclerótico</li> <li>• Macroglobulinemia de Waldenström</li> <li>• Gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI)</li> <li>• Crioglobulinemia</li> </ul>
<b>POLINEUROPATÍA PARANEOPLÁSICA</b>	
<b>POLINEUROPATÍA DEL ENFERMO CRÍTICO</b>	
<b>POLINEUROPATÍA HEREDITARIA</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth</li> <li>• Neuropatía sensitiva autonómica hereditaria</li> <li>• Polineuropatía amiloidótica familiar</li> <li>• Porfiria</li> <li>• Otras</li> </ul>

[Tabla adaptada de Pardo J., Gutierrez-Rivas E., Guijarro M. Polineuropatías. Julio Pascual Gomez. Tratado de Neurología. Madrid: Luzán 5; 2012: 1315-17].

## 2.2 NEUROPATÍAS HEREDITARIAS

El origen de las neuropatías hereditarias es un defecto genético. Los genes implicados en el desarrollo de neuropatías hereditarias codifican proteínas con localización y funciones muy diversas, tanto a nivel axonal como en la célula de Schwann [4,9–11]. Las polineuropatías hereditarias pueden dividirse en dos grupos principales:

1. Síndromes en los que la neuropatía es la única o principal manifestación.
2. Síndromes donde la neuropatía forma parte de una enfermedad neurológica más compleja o afectación multisistémica (tabla 2).

Cuando la neuropatía es el síntoma principal o la única manifestación de la enfermedad diferenciamos tres entidades principales: (1) la neuropatía hereditaria motora y sensitiva (NHMS) o enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT), (2) la neuropatía hereditaria sensitiva y autonómica (NHSA) y (3) la neuropatía hereditaria motora distal (NHMD). Además, en esta categoría hay dos neuropatías hereditarias con afectación sensitivomotora de curso recurrente que son la neuropatía con susceptibilidad a las parálisis por presión (HNPP) o neuropatía tomacular y la neuralgia amiotrófica hereditaria [5,12]. En el segundo grupo, donde la neuropatía forma parte de una enfermedad más compleja, podemos clasificar el síndrome neuropático en tres categorías mayores: (1) neuropatía y

ataxia, (2) neuropatía y espasticidad o (3) neuropatía y retraso global del neurodesarrollo. A pesar de esta subdivisión, hay neuropatías complejas que no se pueden englobar en ninguno de los tres subgrupos anteriores, en este caso, hay una serie de signos y/o síntomas menores que pueden orientar el diagnóstico (tabla 2) [13].

**TABLA 2. NEUROPATÍAS HEREDITARIAS COMPLEJAS**

NEUROPATÍAS HEREDITARIAS COMPLEJAS	
NEUROPATÍA Y ATAXIA	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ataxia de Friedreich</li> <li>• Ataxia con apraxia oculomotora tipo 1</li> <li>• Ataxia espinocerebelosa AR (SCAR1, SCAR21)</li> <li>• Ataxia-telangiectasia</li> <li>• Abetalipoproteinemia</li> <li>• Ataxia con déficit de vitamina E</li> <li>• Síndrome de X Frágil</li> <li>• Galactosialidosis</li> <li>• Síndrome de ataxia cerebelosa con neuropatía y arreflexia vestibular bilateral (CANVAS)</li> <li>• Leucoencefalopatía con afectación de troncoencéfalo y espinal (LBSL)</li> <li>• Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP)</li> <li>• Ataxia espinocerebelosa con neuropatía (SCAN1)</li> <li>• Trastornos en la síntesis de Peroxisomas 6</li> <li>• Microcefalia, epilepsia y retraso del desarrollo (MCSZ)</li> <li>• Ataxia espinocerebelosa SCA1, SCA2, SCA3, SCA7, SCA10, SCA12, SCA23, SCA27, SCA36</li> <li>• Polineuropatía, hipoacusia, ataxia, retinitis pigmentosa y cataratas (PHARC)</li> <li>• Ataxia de Charlevoix-Saguenay (ARSACS)</li> <li>• Ataxia central y periférica con hipoacusia y diabetes mellitus (ACPHD)</li> <li>• Xantomatosis cerebrotendinosa</li> <li>• Enfermedad de Refsum</li> </ul>	
NEUROPATÍA Y ESPASTICIDAD	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paraparesia espástica hereditaria asociada a HSN</li> <li>• Paraparesia espástica, atrofia óptica y neuropatía (SPOAN)</li> <li>• SPG3A, SPG4, SPG5A, SPG7, SPG9A, SPG10, SPG11, SPG12, SPG15, SPG17, SPG20, SPG26, SPG28, SPG30, SPG39, SPG43, SPG46, SPG55, SPG56, SPG57, SPG61</li> <li>• Ataxia espástica 5</li> </ul>	

- 
- Enfermedad por cuerpos de poliglucosanos del adulto
  - Atrofia muscular espinal distal
  - Adrenoleucodistrofia
  - Déficit de Alfa-methylacil-CoA racemasa

#### NEUROPATÍA Y RETRASO GLOBAL DEL DESARROLLO

- Insensibilidad congénita al dolor
- Síndrome de Neuropatía sensitiva y autonómica con discapacidad intelectual
- Síndrome de depleción de ADN mitocondrial tipo 7 (MTDPS7)
- Neuropatía axonal gigante
- Neurodegeneración cerebral con depósitos de hierro 2A
- Disgenesia cerebral, neuropatía, ictiosis y keratoderma (CEDNIK)
- Déficit Piruvato-deshidrogenasa alfa-E1
- Trastorno congénito de la glicosilación
- Leucodistrofia hipomielinizante 6
- Síndrome Harel-Yoon (HAYOS)
- Trastorno de la génesis peroxisomal (PBD9B)
- Déficit Hexosaminidasa A
- Enfermedad de Sandhoff
- Hipoplasia pontocerebelosa 9, 1B
- Atrofia muscular espinal de predominio en extremidades inferiores (SMALED1 y 2)
- Síndrome de la triple A, enfermedad de Allgrove (AAAS)
- Atrofia muscular espinal con epilepsia mioclónica progresiva
- Enfermedad neurológica, endocrina y pancreática de inicio infantil
- Déficit intelectual, enteropatía, hipoacusia neurosensorial, neuropatía e ictiosis (MEDNIK)
- Síndrome de Cockayne
- Síndrome de Leigh
- Encefalopatía secundaria a defectos de la fisión mitocondrial y peroxisomal 2
- Agenesia del cuerpo caloso con neuropatía
- Síndrome de Aicardi-Goutieres
- Leucodistrofia hipomielinizante con cataratas congénitas
- Trastorno congénito de la glicosilación 1A
- Leucodistrofia metacromática
- Enfermedad de Krabbe
- Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher

#### NEUROPATÍA Y SÍNTOMAS EXTRAPIRAMIDALES

- Leucoencefalopatía con distonía y neuropatía motora
  - Síndromes de depleción de ADN mitocondrial (MTDPS4B, MTDPS5)
  - Corea-Acantocitosis
  - Síndrome McLeod
  - CMT2P
  - Atrofia muscular espinal distal tipo 5 (DSMA 5)
-

- 
- Enfermedad mitocondrial
  - SPG10

NEUROPATÍA Y ENFERMEDAD OFTALMOLÓGICA  
(\*ATROFIA ÓPTICA / \*\*RETINITIS PIGMENTOSA / \*\*\*CATARATAS)

- Síndrome de Atrofia óptica\*
- Síndrome de Costeff u OPA3\*
- Atrofia óptica de Leber\*
- Neuropatía hereditaria motora y sensitiva (HMSN6B\*)
- CMTX5\*, CMT1B, CMT2M
- Síndrome de Brown-Vialetto-Van-Laere (BVVLS2\*)
- Paraparesia espástica, atrofia óptica y neuropatía (SPOAN\*)
- SPG7, SPG9A, SPG15\*\*, SPG43, SPG46\*\*\*, SPG55, SPG57\*
- Leucodistrofia metacromática\*
- Enfermedad de Krabbe\*
- Encefalopatía por defecto de la fisión peroxisomal y mitocondrial\*
- Síndrome de Cockayne\*
- Déficit de Hexosaminidasa A\*
- Enfermedad de Sandhoff\*
- Síndrome de Harel-Yoon (HAYOS\*)
- Aciduria metilmalónica y homocisteinuria tipo Cb1c\*\*
- Síndrome Kearns-Sayre\*\*
- Ataxia cordonal posterior y retinitis pigmentosa\*\*
- Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP\*\*)
- Enfermedad de Refsum\*\*
- Polineuropatía, hipoacusia, ataxia, retinitis pigmentosa y cataratas\*\*
- Déficit de alfa-methylacil-CoA racemasa (AMACRD\*\*)
- Síndrome de Cockayne\*\*
- Trastorno de la génesis peroxisomal (PBD9B\*\*)
- Defectos congénitos de la glicosilación tipo 1A\*\*
- Cataratas congénitas, dismorfia facial y neuropatía\*\*\*
- Xantomatosis cerebrotendinosa\*\*\*
- Leucodistrofia hipomielinizante (HLD5/HCC\*\*\*)

NEUROPATÍA PERIFÉRICA Y CRANEAL

- Polineuropatía amiloidótica familiar tipo 4 (FAP-4)
  - Síndrome Kearns-Sayre
  - Síndrome de depleción de ADN mitocondrial tipo (MTDPS8B, MTDPS5, MTDPS4B)
  - Fibrosis congénita de músculos extraoculares (CFEOMA3)
  - Atrofia muscular bulbo-espinal (SBMA)
  - BVVLS1, BVVLS2
  - Síndrome de neuropatía, miopía, ronquera e hipoacusia (PNMHH)
  - Síndrome Cowchock
  - Encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica con episodios de focalidad neurológica (MELAS)
  - Neurofibromatosis tipo 2 (NF2)
-

- 
- Enfermedad de Kanzaki
  - Síndrome de neuropatía sensitiva hereditaria, demencia e hipoacusia (HSN1E)
  - Ataxia central y periférica con hipoacusia y diabetes mellitus (ACPHD)
  - Polineuropatía, hipoacusia, ataxia, retinitis pigmentosa y cataratas
  - Enfermedad de Refsum
  - Trastorno de la génesis peroxisomal (PBD9B)
  - Déficit intelectual, enteropatía, hipoacusia neurosensorial, neuropatía e ictiosis (MEDNIK)
  - CMTX5

#### NEUROPATÍA PERIFÉRICA Y ENFERMEDAD ENDOCRINA

- Disgenesia gonadal con neuropatía
- Adrenoleucodistrofia
- Síndrome de la triple A (AAAS)
- Enfermedad neurológica, endocrina y pancreática de inicio infantil
- Atrofia muscular bulbo-espinal (SBMA)

#### NEUROPATÍA Y MIOPATÍA

- Distrofia muscular congénita 1A (déficit de merosina)
- Miopatía miofibrilar tipo 6 (MFM6)
- Distrofia muscular de cinturas y neuropatía (LMNA)
- Epilepsia mioclónica con fibras rojo rasgadas (MERRF)
- Déficit acyl-CoA dehidrogenasa
- HMN2A, HMN2B
- Síndrome de artrogriposis congénita letal
- Miopatía distal con neuropatía axonal motora, ronquera e hipoacusia (PNMHH)

#### NEUROPATÍA Y CARDIOMIOPATÍA

- Polineuropatía amiloidótica familiar (FAP-1)
- Enfermedad de Fabry
- Déficit complejo V de la cadena respiratoria
- Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP)
- Ataxia de Friedreich
- Síndrome de Harel-Yoon (HAYOS)
- Síndrome de McLeod
- Síndrome de Kearns-Sayre
- Miopatía miofibrilar, cardiomiopatía, escoliosis, neuropatía axonal (MFM6)

#### NEUROPATÍA Y ENFERMEDAD HEPÁTICA Y GASTROINTESTINAL

- Síndrome de depleción ADN mitocondrial (MTDPS1, MTDPS3, MTDPS4B, MTDPS6, MTDPS8B)
  - SCAR21
  - Tirosinemia tipo 1
  - Amiloidosis visceral hereditaria
  - Neuropatía autonómica y somática
-



- 
- Síndrome de megacolon de Goldberg-Shprintzen
  - Síndrome de Waardenburg tipo 2E
  - Síndrome de la triple A (AAAS)
  - Déficit intelectual, enteropatía, hipoacusia neurosensorial, neuropatía e ictiosis (MEDNIK)
  - Xantomatosis cerebrotendinosa
  - Polineuropatía amiloidótica familiar (FAP-1)

#### NEUROPATÍA Y ENFERMEDAD RENAL

- Polineuropatía amiloidótica familiar (FAP-3)
- Síndrome de insuficiencia renal y mioclonus
- CMTDIE
- Enfermedad de Fabry

#### NEUROPATÍA Y ENFERMEDAD HEMATOLÓGICA E INMUNOLÓGICA

- Homocisteinuria con acidosis metilmalónica (MMACHC)
- Síndrome de Chediack-Higasi
- Déficit hereditario de CD59
- Síndrome de McLeod

#### NEUROPATÍA Y ENFERMEDAD CUTÁNEA Y DEL TEJIDO CONECTIVO

- Xeroderma pigmentosum
- Neuropatía hereditaria AR con o sin degeneración macular (HNARMD)
- Síndrome de Ehlers-Danlos (EDS6)
- Enfermedad de tejido conectivo y neuropatía
- Enfermedad de Refsum
- Trastorno de la génesis peroxisomal (PBD9B)
- Xantomatosis cerebrotendinosa
- Disgenesia cerebral, neuropatía, ictiosis y keratoderma (CEDNIK)
- Déficit intelectual, enteropatía, hipoacusia neurosensorial, neuropatía e ictiosis (MEDNIK)
- Síndrome de Cockayne
- Polineuropatía amiloidótica familiar (FAP-4)
- Enfermedad de Kanzaki
- Enfermedad de Fabry

#### NEUROPATÍA HEREDITARIA RECURRENTE

- Porfiria aguda intermitente. Coproporfiria. Porfiria variegata
- Tirosinemia tipo 1
- Déficit de proteína trifuncional, neuropatía y miopatía
- Enfermedad de jarabe de arce Ib
- Síndrome de disfunción del metabolismo de la tiamina (THMD4)
- Enfermedad de Tangier
- Déficit hereditario de CD59

---

Principales síndromes donde la neuropatía forma parte de un cuadro clínico con afectación multisistémica.

[Adaptada de Rossor et al., J Neurol Neurosurg Psychiatry; 2017]

## 3 ENFERMEDAD DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

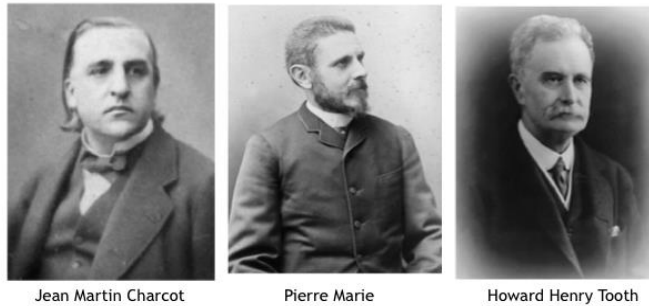
### 3.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth debe su nombre a Jean-Martin Charcot, Pierre Marie (Francia) y Howard Henry Tooth (Reino Unido) que en 1886 describen una forma particular de atrofia muscular progresiva (Figura 2).

En Francia, Charcot y Pierre Marie describen cinco pacientes, dos de ellos hermanos, con un cuadro clínico que llamaron "atrofia muscular progresiva" de inicio entre los 3 y los 15 años. Observaron una atrofia distal de muslos y piernas, pies cavos, dedos en martillo, arreflexia de extremidades inferiores, mano en garra y una marcha equina. Únicamente un paciente presentaba alteración sensitiva. La causa de la enfermedad propuesta por ambos autores fue una mielopatía.

En Reino Unido tres meses más tarde, Howard Henry Tooth describe cinco pacientes con "una atrofia muscular progresiva de tipo peroneal". Los síntomas comienzan entre los 6 y los 35 años, en forma de atrofia muscular en extremidades inferiores. Los músculos más afectados eran la musculatura peroneal, tibial anterior, *extensor digitorum longus* y gemelos. Dos pacientes presentaban una amiotrofia asimétrica y dos tenían una atrofia de los músculos intrínsecos de las manos con arreflexia. El autor consideró que la enfermedad estaba causada por un daño del nervio periférico [14].

FIGURA 2. CHARCOT, MARIE Y TOOTH



Jean Martin Charcot

Pierre Marie

Howard Henry Tooth

[Adaptada de Kazamel et al. J. Neurol; 2014].  
Esta figura cuenta con la autorización otorgada por Springer Nature, Copyright Clearance Center.

En 1893 Dejerine y Sottas, describieron una forma de neuropatía hipertrófica más grave y de inicio precoz. La enfermedad afectaba a dos hermanos, sin antecedentes familiares de neuropatía, en los que se podía observar un engrosamiento de nervios periféricos, cifoescoliosis y pupila de Argyll-Robertson. En 1926, Roussy y Lévy detallan un síndrome clínico similar al descrito por Charcot, Marie y Tooth donde el temblor era la característica principal conocido como síndrome de Roussy-Lévy.

Guilliat y Thomas en 1957, así como Dick y Lambert en 1968 fueron los primeros en clasificar la atrofia muscular progresiva en dos formas en función de la velocidad de conducción nerviosa y los hallazgos histológicos. Observaron familias que presentaban una atrofia muscular progresiva con disminución de la velocidad de conducción nerviosa e hipertrofia de nervios y otras familias con velocidad de conducción nerviosa normal.

En la década de los 70, Dyck y Lambert (1968) y posteriormente Thomas y Harding (1974, 1980) clasificaron la enfermedad según el patrón de herencia, características clínicas, electrofisiológicas e histológicas. Esta clasificación aceptada hasta la actualidad distingue cinco grandes tipos: 1) CMT1, son formas desmielinizantes o hipertróficas, con una velocidad de conducción nerviosa motora de nervio mediano  $< 38$  m/s y de herencia AD o AR; 2) CMT2 son formas axonales con una VCNM  $> 38$  m/s, de herencia AD o AR; 3) enfermedad de Dejerine-Sottas, son formas graves de CMT hipomielinizantes de herencia AR; 4) formas ligadas al cromosoma X; 5) formas complejas [15,16].

En 1982, Bird y colaboradores mediante estudio de ligamiento, demostraron que el gen que causaba la forma desmielinizante de CMT se encontraba ligado al locus del antígeno Duffy en el cromosoma 1. Sin embargo, la mayoría de familias con CMT desmielinizante mostraban ligamiento en el brazo corto del cromosoma 17. El locus del cromosoma 17p se llamó CMT1A y el locus del cromosoma 1q se llamó CMT1B [14,17].

En 1995 sólo se conocían mutaciones en los genes de la proteína de la mielina periférica 22 (*PMP22*), de la proteína cero de la mielina (*MPZ*) y en el gen *GJB1* o conexina-32 [18]. Debido al avance de la genética molecular, en los últimos 20 años se identificaron más de 80 genes relacionados con la enfermedad, el 47% fueron identificados después del año 2009 [12,19,20].

### 3.2 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La neuropatía hereditaria motora y sensitiva o CMT es una enfermedad genéticamente heterogénea con un fenotipo clínico común. Está causada por mutaciones en genes que codifican proteínas que se localizan a lo largo del nervio periférico y participan en diversas funciones. El mecanismo final de la enfermedad es una degeneración axonal, que permite explicar el fenotipo clínico [21]. La atrofia, debilidad muscular y pérdida de la sensibilidad ocurren con un patrón dependiente de la longitud y con una progresión de distal a proximal. La enfermedad comienza en extremidades inferiores, con debilidad y atrofia de musculatura intrínseca de los pies, causando la aparición de pie cavo y dedos en martillo. La progresión hacia la pierna y el tercio inferior del muslo da lugar al patrón típico de patas de cigüeña. La enfermedad también puede afectar a las manos y antebrazos (Figura 3 A-F). La pérdida de modalidades sensitivas, sobre todo, vibratoria, táctil y algésica es frecuente. En algunos casos la sensibilidad propioceptiva se puede alterar dando lugar a una ataxia sensitiva. Los reflejos musculares están hipoactivos o ausentes. Además, otros datos que frecuentemente podemos encontrar en un paciente con CMT son la escoliosis, temblor, calambres musculares, dificultad para manipular objetos, dificultad para correr o caminar, pie caído, marcha en *steppage* o dolor en extremidades inferiores y/o dolor lumbar.

FIGURA 3. DEFORMIDADES ESQUELÉTICAS EN CMT



FIGURA 3 (A). FENOTIPO PATAS DE CIGÜEÑA EN PACIENTE CON CMT



FIGURA 3 (C-D). PIE CAVO Y DEDOS EN MARTILLO EN CMT



FIGURA 3 (E-F). ATROFIA DE MUSCULATURA INTRINSICA DE LAS MANOS EN CMT

El fenotipo clásico de CMT comienza en la primera o en la segunda década de la vida con una progresión lenta. Sin embargo, el rango de edad de comienzo de la enfermedad y gravedad clínica puede ser ampliamente variable. Hay pacientes con CMT en los que la enfermedad comienza de forma precoz y causa un fenotipo grave, mientras que otros casos permanecen asintomáticos o con clínica leve hasta una edad avanzada [22,23]. A pesar de existir un fenotipo clínico común, CMT presenta una importante variabilidad clínica intra e interfamiliar así como un importante solapamiento genético (mutaciones en genes diferentes pueden causar el mismo fenotipo y diferentes mutaciones en el mismo gen pueden causar fenotipos diferentes) [24].

### **3.3 CLASIFICACIÓN ACTUAL DE CMT**

La clasificación actual de CMT se basa en la propuesta por Dyck y posteriormente Harding en la década de los 70 [16]. Se diferencian dos grandes grupos:

- 1) CMT1 o CMT4 según el patrón de herencia AD o AR respectivamente. Son formas desmielinizantes con una velocidad de conducción nerviosa motora en nervio mediano  $< 38$  m/s, amplitud normal o discretamente reducida y biopsia de nervio sural con datos de desmielinización y proliferación de las células de Schwann, formando estructuras concéntricas o bulbos de cebolla.

- 2) CMT2 son formas axonales, de herencia AD o AR. Se observa una reducción en la amplitud del potencial de acción muscular compuesto con velocidad de conducción nerviosa motora normal o discretamente reducida ( $VCNM > 38$  m/s) y datos de degeneración axonal y regeneración en la biopsia de nervio.

A pesar de esta sencilla clasificación, hay formas de CMT que no pueden clasificarse como CMT1 ni como CMT2, son las formas de CMT intermedio.

- 3) CMT intermedio. En aquellos casos donde se dan las siguientes características: 1) VCNM entre 25-45 m/s, 2) aumento de la latencia distal, 3) amplitud del potencial de acción muscular compuesto normal y 4) datos de degeneración axonal, regeneración nerviosa, y presencia de bulbos de cebolla en la biopsia de nervio [16,25].

Con el advenimiento de las nuevas técnicas de secuenciación masiva, la nosología de CMT está en permanente cambio. Hay más de 80 genes patogénicos implicados en CMT y más del 50% de los mismos se describieron después de 2009. Por este motivo, hoy en día, realizar una clasificación puramente basada en la genética no resulta práctico debido a la importante variabilidad fenotípica y genética [24]. Una adecuada nomenclatura de CMT debe incluir el patrón neurofisiológico, patrón de herencia y diagnóstico molecular.



TABLA 3. CLASIFICACIÓN ACTUAL DE CMT

Tipo	Gen	Fenotipo
<b>CMT1 AUTOSÓMICO DOMINANTE</b>		
CMT1A	<i>PMP22</i>	Fenotipo clásico CMT1, SDS, NHC
CMT1B	<i>MPZ</i>	CMT1, SDS, NHC
CMT1C	<i>LITAF</i>	CMT1 clásico
CMT1D	<i>EGR2</i>	CMT1 clásico, SDS, NHC
CMT1F	<i>NEFL</i>	Fenotipo CMT2 con VCNM en rango desmielinizante
CMT1G	<i>PMP22</i>	CMT1 clásico
CMT1 plus	<i>FBLN5</i>	Cutis laxa, degeneración macular, VCN baja, NHM
<b>CMT1 AUTOSÓMICO RECESIVO (CMT4)</b>		
CMT4A	<i>GDAP1</i>	Inicio precoz grave, parálisis cuerdas vocales y diafragmática
CMT4B1	<i>MTMR2</i>	CMT1 grave, afectación facial y bulbar
CMT4B2	<i>MTMR13 (SBF2)</i>	CMT1 grave, glaucoma, plegamientos focales mielina
CMT4B3	<i>MTMR5 (SBF1)</i>	CMT1, plegamientos focales mielina
CMT4C	<i>SH3TC2</i>	CMT1 grave, escoliosis, inclusiones citoplasmáticas
CMT4D	<i>NDRG1</i>	CMT1 grave, etnia gitana, hipoacusia, atrofia lingual
CMT4E	<i>EGR2</i>	CMT1, SDS, NHC
CMT4F	<i>PRX</i>	CMT1, predominio sensitivo, plegamientos focales mielina
CMT4G	<i>HK1</i>	CMT1 de inicio precoz grave, etnia gitana
CMT4H	<i>FGD4</i>	CMT1 clásico
CMT4J	<i>FIG4</i>	CMT1, predominio motor
CCFDN	<i>CTDP1</i>	CMT1, etnia gitana, cataratas, dismorfia
CMT4	<i>SURF-1</i>	CMT1, Ataxia, encefalopatía, Síndrome Leigh
CMT4	<i>AHNAK2</i>	CMT1
<b>CMT2 AUTOSÓMICO DOMINANTE</b>		
CMT2A	<i>MFN2</i>	CMT2, atrofia óptica
CMT2B	<i>RAB7</i>	CMT2, úlceras
CMT2C	<i>TRPV4</i>	CMT2, parálisis cuerdas vocales
CMT2D	<i>GARS, BSCL2</i>	CMT2 con debilidad de manos predominante
CMT2E	<i>NEFL</i>	CMT2 con VCN en rango desmielinizante
CMT2F	<i>HSPB1</i>	CMT2 predominio motor

Tipo	Gen	Fenotipo
CMT2I	<i>MPZ</i>	CMT2 inicio tardío
CMT2J	<i>MPZ</i>	CMT2 con hipoacusia y alteración pupilar
CMT2K	<i>GDAP1</i>	CMT2 inicio tardío leve-moderado; CMT2 grave
CMT2L	<i>HSPB8</i>	CMT2 predominio motor
CMT2M	<i>DNM2</i>	CMT2, cataratas, oftalmoplejia, ptosis
CMT2N	<i>AARS</i>	CMT2 clásico
CMT2P	<i>LRSAM1</i>	CMT2 leve de predominio sensitivo
HMSNP	<i>TFG</i>	CMT2 con afectación proximal
CMT2V	<i>NAGLU</i>	CMT2 predominio sensitivo
CMT2W	<i>HARS</i>	CMT2
CMT2Z	<i>MORC2</i>	CMT2 con signos piramidales
CMT2CC	<i>NEFH</i>	CMT2, debilidad proximal
CMT2DD	<i>ATP1A1</i>	CMT2
OTROS	<i>VCP</i>	CMT2
	<i>KIF5A</i>	CMT, paraparesia espástica
	<i>MT-ATP6</i>	CMT2, signos piramidales, recurrencia
	<i>TUBB3</i>	Fibrosis congénita músculos extraoculares
	<i>DGAT2</i>	CMT2 de inicio precoz con ataxia sensitiva
<b>CMT2 AUTOSÓMICO RECESIVO</b>		
CMT2B1	<i>LMNA</i>	CMT2 rápida progresión
CMT2B2	<i>PNKP</i>	CMT2 con ataxia cerebelosa
CMT2R	<i>TRIM2</i>	CMT2 inicio infantil
CMT2S	<i>IGHMBP2</i>	CMT2
CMT2T	<i>MME</i>	CMT2 inicio tardío
CMT2X	<i>ALS5/SPG11/KIAA8140</i>	Signos piramidales, inicio segunda década
	<i>SCO<sub>2</sub></i>	Predominio motor, puede causar cardioencefalomiopatía infantil
	<i>DNAJB2</i>	CMT2
	<i>HINT1</i>	Neuropatía axonal, predominio motor con neuromiotonía
	<i>GDAP1</i>	CMT2 grave con afectación de cuerdas vocales
	<i>C12orf65</i>	CMT2 con atrofia óptica (AR-CMT6)
	<i>MCM3AP</i>	Inicio precoz, silla de ruedas 2ª década, discapacidad intelectual
<i>MTMR5 (SBF1)</i>	CMT2 inicio precoz, microcefalia, retraso motor, signos piramidales, oftalmoplejia	
<b>CMT LIGADO A X</b>		

Tipo	Gen	Fenotipo
CMTX1	<i>GJB1</i>	CMT1 hombres, CMT2 mujeres
CMTX3	<i>Inserción C8</i>	
CMTX4	<i>AIFM1</i>	Fenotipo CMT2, inicio infantil, retraso desarrollo, hipoacusia, dificultad aprendizaje
CMTX5	<i>PRPS1</i>	Fenotipo CMT2, sordera, atrofia óptica
CMTX6	<i>PDK3</i>	Fenotipo CMT2
CMTX	<i>DRP2</i>	VCN intermedia
<b>CMT INTERMEDIA AD</b>		
CMTDIB	<i>DNM2</i>	Cataratas, ptosis, oftalmoplejia
CMTDIC	<i>YARS</i>	CMTI
CMTDID	<i>MPZ</i>	CMTI
CMTDIE	<i>IFN2</i>	Glomeruloesclerosis, enfermedad renal terminal
CMTDIF	<i>GNB4</i>	CMTI
<b>CMT INTERMEDIA AR</b>		
CMTRIA	<i>GDAP1</i>	CMTI
CMTRIC	<i>PLEKHG5</i>	CMTI, AME
CMTRID	<i>COX6A1</i>	CMTI inicio en la primera década

Clasificación de CMT. [Adaptado de Laurá, M., et al. Current Opinion; 2019].

### 3.4 MECANISMOS ESTIOPATOGÉNICOS

El avance de la medicina molecular hizo posible conocer los principales genes implicados en CMT. Mutaciones en estos genes causan una alteración en diferentes proteínas implicadas en diversas funciones celulares. Los mecanismos patogénicos de CMT los podemos clasificar según las proteínas alteradas y función celular: (1) proteínas estructurales de la mielina; (2) proteínas implicadas en el mantenimiento del citoesqueleto y transporte axonal; (3) dinámica mitocondrial; (4) síntesis, distribución y degradación de proteínas; (5)

proteínas de membrana nuclear, proteínas implicadas en la transcripción y procesamiento de mRNA; y (6) canales iónicos [4,26].

## **PROTEÍNAS ESTRUCTURALES DE LA MIELINA**

La duplicación en el gen *PMP22* (*peripheral myelin protein 22*) es la causa más frecuente de CMT. Representa un 70% de las formas desmielinizantes (CMT1) y un 55% de todos los casos de CMT (CMT1A). El gen *PMP22* codifica una proteína de membrana de 22 kDa que compone el 2-5% de la mielina, la proteína de la mielina periférica 22, la cual está implicada en la formación y mantenimiento de la mielina compacta. Las neuropatías hereditarias que se relacionan con *PMP22* se pueden dividir en tres grupos (CMT1A, NHPP, mutaciones puntuales). CMT1A se debe a una duplicación de 1,5 Mb en el cromosoma 17p11.2-p12 que contiene el gen *PMP22*. La trisomía alélica o duplicación de *PMP22* causa una sobreproducción de proteína, agregados proteicos en el retículo endoplásmico de la célula de Schwann, formación de una mielina inestable y muerte celular programada [9,27]. La neuropatía tomacular o neuropatía sensitivomotora con susceptibilidad a la parálisis por presión es debida a una delección en la región 17p11.2-12 que incluye al gen *PMP22*. El tercer grupo ocurre en caso de mutaciones puntuales en *PMP22* que da lugar a CMT1E [28].

En 1982 se demostró que el gen responsable de CMT1 se localizaba en el cromosoma 1, pero no sería hasta 1993 cuando se

identificó el gen *MPZ* (*myelin protein zero*), responsable de CMT1B. El gen *MPZ* codifica una glicoproteína transmembrana de 28 kDa que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas, la proteína mayor 0 (P0). La proteína P0 compone el 50% de las proteínas mielínicas y es esencial para el mantenimiento y función de la mielina. Las mutaciones en este gen causan una ganancia de función que resulta perjudicial en el nervio periférico [29]. Hay dos fenotipos de CMT asociados con mutaciones en este gen, una forma desmielinizante de herencia AD (CMT1B) responsable de menos del 5% de CMT1 y una forma axonal AD (CMT2) [30–32].

Las tres proteínas principales de la mielina son la proteína básica de la mielina (MBP o P1), la proteína cero de la mielina (P0) y la proteína periférica de la mielina (PMP2 o P2). Mutaciones en el gen *PMP2* (*peripheral myelin protein 2*) que codifica la proteína P2 se asocian con CMT1. La proteína P2 tiene una doble función, actúa como una proteína de membrana periférica y además ejerce como una proteína de unión a ácidos grasos permitiendo su transporte desde el citoesqueleto y posterior liberación en la membrana. Además, recientemente se ha observado que desarrolla un papel importante durante el proceso de remielinización del nervio periférico tras una lesión [33–35].

## CITOESQUELETO Y TRANSPORTE AXONAL

El citoesqueleto es una estructura tridimensional compuesta por microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios que en conjunto proporcionan soporte interno a la célula, permite la organización de estructuras e interviene en los procesos de transporte celular. Mutaciones en proteínas relacionadas con el citoesqueleto, tanto de la célula de Schwann como en el citoesqueleto del axón, se asocian con CMT.

La periaxina es una proteína estructural localizada en las células de Schwann. Esta proteína está codificada por el gen *PRX*. Las dos isoformas de la periaxina interactúan con el complejo de distroglicanos a través de la proteína relacionada con la distrofina (DRP2). De esta forma, permiten la unión de la lamina basal al citoesqueleto de la célula de Schwann, contribuyendo junto con la utrofina y la laminina extracelular al adecuado proceso de mielinización y prolongación de la célula. Mutaciones en el gen *PRX* se asocian con CMT desmielinizante de inicio precoz y herencia AR (CMT4F y neuropatía de Dejerine-Sottas) con una afectación predominante sensitiva [36]. En estrecha relación con la periaxina se encuentra DRP2 (*dystrophin-related protein-2*). Esta proteína junto con la periaxina y los distroglicanos forman el complejo periaxina-DRP2-distroglicano (PDG) que resulta fundamental en el proceso de mielinización. Mutaciones en el gen *DRP2* se asociando con CMTX [37–40]. La formina invertida 2 (INF2) codificada por el gen *INF2*, es

otra proteína que se localiza en el citoesqueleto de las células de Schwann, así como en algunos axones y podocitos del riñón. Es una proteína asociada al retículo endoplasmico encargada de facilitar la polimerización y despolimerización de los filamentos de actina. Mutaciones en *INF2* causan una alteración en la polimerización de los filamentos causando un daño en el proceso de mielinización [41]. Aunque la primera descripción de pacientes con CMT y glomeruloesclerosis se realizó en 1967 por Lemieux y Meemeh, no fue hasta el 2011 cuando se describe la primera mutación en el gen *INF2* asociada a CMT con glomerulopatía [42,43]. Otra proteína de unión a la actina es la frabina codificada por el gen *FGD4*. Es una proteína con actividad Rho GTP-asa que actúa como factor de intercambio nucleotídico, implicada en el proceso de mielinización, mantenimiento de la mielina y proceso de endocitosis de la célula de Schwann [44,45]. Mutaciones en el gen *FGD4* son una causa poco frecuente de CMT desmielinizante (CMT4H) [46,47]. En 2006 Berti et al [48]; especuló que los genes que codifican proteínas de matriz extracelular podrían estar implicados en el desarrollo de CMT. Estas proteínas de matriz son fundamentales para la correcta interacción entre la célula de Schwann y la propia matriz extracelular durante el proceso de mielinización del sistema nervioso periférico. Una de estas proteínas de matriz extracelular es la fibulina-5 (FBLN5), codificada por el gen *FBLN5*. Se trata de una glicoproteína de unión al calcio de la matriz, que se expresa en tejidos elásticos. Es una proteína

fundamental para el correcto depósito de elastina, interviene en la comunicación entre la célula y la matriz, regula la organogénesis, fibrogénesis y remodelación vascular [49,50]. Mutaciones en el gen *FBLN5* causan CMT desmielinizante con síntomas oculares y alteración cutánea (degeneración macular, hiperelasticidad cutánea) [51].

En el citoesqueleto axonal también podemos destacar diversas proteínas que intervienen tanto en el mantenimiento estructural como en el transporte axonal. Mutaciones en estas proteínas se asocian con diversas formas de CMT. Una de las proteínas más importantes del citoesqueleto axonal son los neurofilamentos (NFL), proteína codificada por el gen *NEFL* (*neurofilament light chain*). Mutaciones en este gen se asocian con CMT2E y menos frecuentemente con CMT1F o con formas intermedias [52–55]. Se han propuesto diversos mecanismos mediante los cuales las mutaciones en el gen *NEFL* pueden causar CMT. Mutaciones en los neurofilamentos citoplasmáticos alteran el transporte de organelas con el consiguiente acúmulo de mitocondrias a nivel proximal y reducción del aporte energético a nivel distal [56]. El daño en los neurofilamentos se asocia con una disrupción de la interacción entre la célula de Schwann y el axón causando CMT o bien que la propia alteración estructural con axones más finos se pueda traducir finalmente en una menor velocidad de conducción [57].



Las proteínas estructurales del citoesqueleto tienen un papel fundamental en el control del transporte axonal, tanto anterógrado como retrógrado. Las kinesinas son una familia de proteínas encargadas del transporte axonal anterógrado sobre los microtúbulos. Mutaciones en la familia de las kinesinas (*KIF5A*, *KIF1B*) se asocian con paraparesia espástica, esclerosis lateral amiotrófica y/o CMT2 [58]. Dineína y dinaquina son las principales proteínas encargadas del transporte axonal retrógrado [59]. Mutaciones en *DYNC1H1* (*dynein, cytoplasmic 1, heavy chain 1*) se asocian con CMT2O y con atrofia muscular espinal de predominio en extremidades inferiores [60,61]. Mutaciones en las proteínas encargadas del transporte axonal retrógrado se asocian más frecuentemente con CMT. Otra proteína implicada en el mantenimiento y transporte axonal relacionada con CMT, es la espatacina, proteína codificada por el gen *KIAA1840*. Mutaciones en este gen se relacionan con paraparesia espástica hereditaria (SPG11), formas juveniles de esclerosis lateral amiotrófica y CMT2 de herencia AR con signos piramidales [62]. Los microtúbulos son estructuras dinámicas esenciales en el citoesqueleto celular. Están formados por heterodímeros de alfa-tubulinas y beta-tubulinas, como es *TUBB3*. Los microtúbulos se encargan de diversas funciones en la célula, tales como proporcionar forma, mediar en el transporte intracelular o en procesos de segregación y organización celular. Mutaciones en el gen *TUBB3* se asocian clásicamente con cuadros de fibrosis congénita de los músculos extraoculares y

displasia cortical, pero también se han comunicado pacientes con mutaciones en este gen y CMT2 [63,64].

## **DINÁMICA MITOCONDRIAL**

El nervio periférico tiene una elevada demanda energética para mantener su compleja estructura. Es por ello, que la producción energética en las mitocondrias es fundamental para la formación y mantenimiento de la mielina y del axón. La dinámica mitocondrial se define como el continuo proceso de fusión y fisión imprescindible para regular el número, tamaño y forma, así como, el propio transporte axonal e interacción con otras organelas. El proceso de fusión mitocondrial está regulado por GTPasas localizadas en la membrana externa (MFN1, MFN2) y en la membrana interna de la mitocondria (OPA1). La fisión mitocondrial está regulada por el factor de fisión mitocondrial (MFF), por la proteína de fisión mitocondrial 1 (FIS1) y por la proteína 1 asociada a la diferenciación inducida por gangliósido (GDAP1) localizadas en la membrana externa de la mitocondria [61]. Las mutaciones en el gen *MFN2* son la causa más frecuente de CMT2 (CMT2A) [65–68]. Se han descrito más de 100 variantes en el gen *MFN2*, de las cuales, un alto porcentaje son variantes de significado desconocido o variantes consideradas polimorfismos [69,70]. La mayoría de mutaciones en *MFN2* alteran el proceso de fusión mitocondrial y consecuentemente la interacción de las mitocondrias con otras organelas, así como el transporte axonal de las mitocondrias

sobre los microtúbulos. La proteína 1 asociada a la diferenciación inducida por gangliósidos (*GDAP1*), es una proteína de la familia glutatión S-transferasa. Se localiza en la membrana externa de la mitocondria tanto en el SNC como en el SNP, sobre todo en las células de Schwann. Interviene en el proceso de fisión o división mitocondrial [69,71,72]. Mutaciones en el gen *GDAP1* se asocian con formas graves de CMT de herencia autosómica recesiva con una edad de inicio en la infancia (ARCMT2, CMT4A), aunque también se pueden asociar con formas de inicio en la edad adulta, de herencia autosómica dominante (CMT2K) y con un fenotipo más leve. Mutaciones de herencia recesiva en el gen *GDAP1* se deben a una pérdida de función del gen, las cuales conllevan una alteración en la homeostasis del calcio y disminución en los mecanismos de fisión mitocondrial [73,74]; mientras que, mutaciones de herencia dominante provocan una sobreexpresión del gen causando una fragmentación mitocondrial sin inducción de la apoptosis lo que finalmente se traduce en un daño en la fusión mitocondrial. Además de estos mecanismos patogénicos mencionados, recientemente se ha demostrado que las mutaciones en el gen *GDAP1* se asocian con procesos de neuroinflamación tanto a nivel de médula espinal como de nervio ciático en el modelo animal. Este hallazgo aporta nueva información sobre el mecanismo etiopatogénico de las mutaciones en *GDAP1* asociadas con formas axonales de CMT [75]. En España las mutaciones en el gen *GDAP1* se presentan con una frecuencia elevada como se puede observar en el estudio de Sivera [76].

Diversas proteínas que intervienen en la función mitocondrial se asocian con CMT. En algunos casos únicamente se han comunicado familias aisladas. Una proteína mitocondrial ampliamente expresada en diversos tejidos e implicada en la producción energética es DHTKD1 (dehidrogenasa E1 y transketolasa que contiene el dominio 1). En 2012 se describió la única familia con CMT2 asociado a una pérdida de función en el gen *DHTKD1* [77].

La familia de las hexoquinasas son proteínas catalizadoras en el metabolismo de la glucosa. Existen cuatro tipos de hexoquinasas (HK1, HK2, HK3, HK4), cada una de las cuales se expresa preferentemente en un tejido determinado. La proteína hexoquinasa 1 (HK1), se expresa de forma ubícua pero preferentemente en tejido cerebral; es la encargada de la fosforilación de la glucosa a glucosa-6-fosfato (G6P), el primer paso del proceso de glicolisis. Mutaciones en el gen *HK1*, que codifica la principal proteína encargada de la fosforilación de la glucosa (HK1), se identificó en pacientes con CMT4G (NSMH tipo Russe) [78,79]. Además mutaciones en este gen también pueden asociarse con anemia hemolítica, retinitis pigmentosa, distrofia de retina, trastornos del neurodesarrollo, alteraciones estructurales del parénquima encefálico o atrofia óptica [80].

La muerte celular programada es un proceso fundamental en la célula. Habitualmente este proceso está regulado por las caspasas. Sin embargo, hay procesos de muerte celular regulados a nivel mitocondrial, independientes de la vía de las caspasas. El factor de

inducción de apoptosis mitocondrial (AIF) es una flavoproteína localizada en la mitocondria y liberada en respuesta ante estímulos de muerte celular, además participa en la fosforilación oxidativa llevada a cabo en la mitocondria. Esta proteína está codificada por el gen *AIFM1*, localizado en el cromosoma X. Mutaciones en este gen provocan una inactivación de los mecanismos de muerte celular que conlleva el desarrollo de neuropatía, hipoacusia y deterioro cognitivo conocido como Síndrome de Cowchock (CMTX4, hipoacusia neurosensorial y deterioro cognitivo) [81–83].

Mutaciones en el gen que codifica la isoforma 3 de la piruvato dehidrogenasa (PDK3) se asocian con CMTX6. Esta proteína forma parte del complejo piruvato dehidrogenasa mitocondrial necesario para la obtención de energía a través del ciclo de Krebs. Mutaciones en el gen *PDK3* causan un aumento de lactato, disminución de ATP y alteración de la función mitocondrial [84,85].

En los últimos años, se han identificado mutaciones en genes codificantes para proteínas de la cadena respiratoria que se relacionan con CMT. La citocromo c-oxidasa (COX) es un complejo proteico formado por 13 polipeptidos, 3 de los cuales están codificados por genes mitocondriales. En 2014, se identificaron tres familias con CMT intermedio y mutaciones en el gen *COX6A1* en las cuales la actividad mitocondrial COX y contenido de ATP estaba reducido [86]. La subunidad ATP6 de la ATP sintetasa mitocondrial, codificada por el gen *MT-ATP6* se identificó recientemente como causa de

CMT/NMHD. Mutaciones en este gen provocan una alteración del complejo V de la cadena respiratoria, con la consiguiente disminución de ATP mitocondrial [87].

## **SÍNTESIS, DISTRIBUCIÓN Y DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS**

La correcta integridad y funcionamiento de la célula de Schwann y el axón depende de un adecuado equilibrio entre la síntesis, distribución y degradación de los componentes estructurales. Mutaciones en genes que codifican diferentes proteínas encargadas de regular todos estos procesos pueden causar CMT [26].

El retículo endoplásmico (RE) es una organela implicada en diversas funciones celulares: (1) síntesis, modificación, control de calidad y tráfico de las proteínas secretadas, (2) regulación del calcio, (3) síntesis de lípidos y esteroides, (4) metabolismo de carbohidratos, (5) desintoxicación de sustancias. Mutaciones en genes codificantes de proteínas integrantes del RE se asocian con CMT. La seipina es una proteína implicada en la formación del retículo endoplásmico, codificada por el gen *BSCL2* (*Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2*). Mutaciones en este gen causan un mal plegamiento de la seipina y la formación de agregados que llevan al estrés del retículo endoplásmico y muerte celular programada. El espectro fenotípico asociado a mutaciones en este gen demuestran una amplia variabilidad intra e interfamiliar, donde podemos encontrar un síndrome de Silver

o paraparesia espástica (SPG17), neuropatía motora hereditaria tipo V o CMT2 con afectación predominante de las manos de herencia AD [88,89]. La *Valosing Containing Protein*, codificada por el gen *VCP* es una proteína multifunción, implicada en los procesos de plegamiento proteico en el retículo endoplásmico hasta la degradación de proteínas [90]. Clásicamente, mutaciones en esta proteína provocan una miopatía con cuerpos de inclusión, enfermedad de Paget y demencia frontotemporal; pero también se describieron casos de esclerosis lateral amiotrofica familiar, paraparesia espástica o CMT2Y [91]. Una tercera proteína del retículo endoplásmico asociada con CMT es la Acil-CoA:diacilglicerol aciltransferasa 2, proteína encargada de la síntesis de triglicéridos. Esta proteína está codificada por el gen *DGAT2*. En 2016 se ha publicado la primera familia con CMT2 causado por mutaciones en este gen [92].

Las proteínas de choque térmico (HSP) son macromoléculas de tipo chaperonas encargadas de participar en el mantenimiento del citoesqueleto celular y asegurar un correcto plegamiento proteico. Las mutaciones en el gen *HSP* pueden interferir en la función celular mediante la formación de agregados proteicos que alteran el transporte axonal, afectan a la supervivencia de la célula o alteran su función de chaperonas. Mutaciones en los genes *HSPB1* y *HPSB8*, que codifican para las proteínas HSP22 y HSP27, se han asociado con CMT2L, CMT2F y con neuropatía hereditaria motora distal [93,94].

Entre los genes implicados en la distribución y degradación de proteínas, se encuentran las mutaciones en el gen que codifica para

una pequeña proteína integral de membrana lisosomal (SIMPLE) con actividad ubiquitin ligasa, conocido como *LITAF* (*lipopolysaccharide-induced TNF factor*). En CMT1C causado por mutaciones en el gen *LITAF* se observan proteínas inestables con formación de agregados proteicos [95,96].

La miotubularina es una proteína con función fosfatasa que ejerce su función en los procesos de distribución, endocitosis y degradación de proteínas. Mutaciones en cualquiera de los genes que codifican las tres subunidades de la miotubularina (*MTMR2*, *MTMR5/SBF1*, *MTMR13/SBF2*) se pueden asociar con CMT (CMT4B1, CMT4B3 y CMT4B2). La pérdida de la actividad fosfatasa se asocia con un acúmulo de fosfatidilinositol 3-fosfato y fosfatidilinositol 3,5-bifosfato, causando una alteración en el tráfico de membrana, altera el proceso de endocitosis y exocitosis, así como, la interacción entre la célula de Schwann y el axón [97–99]. Otra proteína con función fosfatasa implicada en la génesis de CMT es *FIG4*. Mutaciones en el gen *FIG4* se asocian con CMT4J [100]. *MTMR2* y *FIG4* actúan sobre el mismo sustrato (fosfatidilinositol 3,5-bifosfato) por lo que se cree que su función podría estar relacionada [101].

Mutaciones en los genes que codifican proteínas con actividad GTPasa pueden alterar el proceso de endocitosis. La dinamina 2 (*DNM2*) es una proteína implicada en la endocitosis, transporte de membrana y cohesión del centrosoma. Mutaciones en el gen *DNM2* se asocian con formas de CMT intermedio (DI-CMTB) y formas axonales (CMT2M) [102,103]. Mutaciones en el gen *RAB7A* que



codifica una proteína con actividad GTPasa (*RAS-associated protein 7A*), implicada en el proceso de endocitosis y transporte de membrana, causa CMT2B y neuropatía sensitiva autonómica tipo 1 [104]. Mutaciones en el gen *KIAA1985*, también conocido como *SH3TC2*, que codifica para una proteína localizada en el endosoma encargada de la interacción con la GTPasa Rab 11, causa una neuropatía desmielinizante de herencia AR (CMT4C) [105,106].

Mutaciones en el gen *NDRG1*, que codifica una proteína con función hidrolasa, se asocia con CMT4D o neuropatía tipo Lom. La proteína codificada por el gen *NDRG1* se expresa de forma preferente en el citoplasma de las células de Schwann, aunque su función específica no se conoce con exactitud, está implicada en múltiples procesos celulares incluida la distribución de proteínas en la célula [107–109].

Recientemente se describieron mutaciones en el gen *MME* asociadas con CMT2 de inicio tardío. Este gen codifica una metaloproteasa, conocida como neprelisina, localizada a nivel del SNC y SNP. Se encarga de la degradación de diversos neuropéptidos (glucagón, encefalinas, sustancia P, neurotensina, oxitocina). A nivel del SNC es la responsable de la degradación del  $\beta$ -amiloide, sin embargo a nivel del SNP no se conoce su función con exactitud, se cree que podría estar implicada en el reemplazo de sustancias nocivas a nivel del nervio periférico [110,111].

El fenotipo clásico de CMT se caracteriza por síntomas motores y sensitivos fundamentalmente negativos. Sin embargo, en los últimos años se describen casos de CMT con síntomas sensitivos positivos,

donde el dolor es el síntoma principal. Este es el caso de las mutaciones asociadas al gen *NAGLU*, que codifica para la  $\alpha$ -N-acetylglucosaminidasa, proteína encargada de la degradación de heparan sulfato. Tradicionalmente, mutaciones de herencia AR en *NAGLU* causan mucopolisacaridosis tipo IIIB. Recientemente se describió una familia con CMT2 de herencia AD asociado a mutaciones en este gen [112].

El gen *LRSAM1* (*Leucine Rich Repeat And Sterile Alpha Motif Containing 1*) codifica para una proteína con actividad E3 ubiquitin ligasa. Esta proteína tiene múltiples funciones a nivel celular, pero destaca un papel importante en el transporte y degradación selectiva de proteínas. Mutaciones en este gen provocan neuropatía axonal (CMT2P) [113].

Mutaciones en el gen *TRIM2*, que codifica para una proteína con función ubiquitin ligasa, encargada de la ubiquitinización de neurofilamentos se asocian con CMT2. Se postula que la falta de ubiquitinización de los neurofilamentos conlleva un acúmulo de estos a nivel axonal y daño del nervio periférico causando una neuropatía sensitivomotora axonal de inicio precoz [114,115]. Otro gen codificante de una proteína con función ubiquitin ligasa e implicado en la ubiquitinización de neurofilamentos es *DCAF8*. Mutaciones en este gen se asocian con CMT2 con acúmulo de neurofilamentos en los axones y la presencia de axones gigantes en la biopsia de nervio [116].

Mutaciones en el gen *HSJ1* (*Heat-Shock Protein J1*) también llamado *DNAJB2*, que codifica para una proteína de la familia HSP40 con función chaperona, se asocian con NHMD, además en los últimos años se describieron diversos casos de CMT2. El mecanismo por el cual mutaciones en este gen causan un daño del nervio periférico no se conocen con exactitud, aunque se presupone que juegan un papel importante en la protección de grupos neuronales, necesaria para la degradación de proteínas nocivas. Se ha observado que la presencia de *HSJ1* evita la agregación de la proteína SOD1 mutada o la agregación de la proteína parkin mutada [117,118].

### **MEMBRANA NUCLEAR, TRANSCRIPCIÓN Y PROCESAMIENTO DE mRNA**

La lamina A/C es una proteína de la membrana nuclear, codificada por el gen *LMNA*. La mutación en el gen de la lamina A/C puede causar una alteración de la función nuclear y/o alterar el anclaje del núcleo al citoplasma [119]. Esta proteína se expresa de forma difusa en las células del organismo, por lo que no es de extrañar que mutaciones en el gen *LMNA* se asocien con muy diversos fenotipos clínicos, desde neuropatías axonales de herencia AR (CMT2B1), distrofia muscular de Emery-Dreifuss, distrofia muscular de cinturas, cardiomiopatía dilatada, lipodistrofia familiar, progeria o dermatopatía restrictiva [120].

Los genes ligados a la síntesis de proteínas e implicados en la génesis de CMT, a menudo codifican para una aminoacil t-RNA sintetasa relacionadas con el proceso de transcripción proteica. Las mutaciones en el gen *GARS*, que afecta a una glicil t-RNA sintetasa se asocian con CMT2D [121], mutaciones en el gen *YARS* que afecta a una tirosil t-RNA sintetasa causan CMTDIC [122], mutaciones en el gen *AARS* que altera una alanin t-RNA sintetasa provoca CMT2N [123], mutaciones en el gen *KARS* (lisil t-RNA sintetasa) se relacionan con CMT intermedio y con neuropatías hereditarias complejas [124]. Mutaciones en *MARS* y *HARS* se relacionan con CMT2U y CMT2W respectivamente [125–128].

El gen *EGR2* codifica para un factor de transcripción implicado en las fases iniciales del proceso de mielinización. Mutaciones en *EGR2* se asocian con formas graves de CMT desmielinizante o síndrome de Déjerine-Sottas, con formas leves o moderadas de CMT1 de inicio en el adulto y también con CMT axonal [129,130].

En 2015, Sevilla y colaboradores identificaron un nuevo gen ligado a CMT2 con un fenotipo similar a la atrofia muscular espinal. El gen *MORC2* que codifica para una proteína de la familia *microorchidia* (MORC), se expresa fundamentalmente a nivel del núcleo celular. La proteína MORC participa en los mecanismos de reparación del ADN, remodelación de la cromatina, regulación de la transcripción y en el metabolismo lipídico [131–133]. El daño en el mecanismo de reparación de ADN se postula como nuevo factor patogénico de CMT [134,135].

Otro gen implicado en la ruta de señalización y proceso de transcripción responsable de CMT2 es *HINT1* (*histidine triad nucleotide binding protein 1*). Es un gen que se expresa ampliamente en diversos tejidos, pero sobre todo en cerebro y médula espinal. La pérdida de función de esta proteína causa un fenotipo CMT2 con neuromiotonía [136–138].

El gen *IGHMBP2* (*immunoglobulin  $\mu$  binding protein 2*) codifica una proteína de la familia de las helicasas dependientes de adenosintrifosfato, implicada en mecanismos de translación y tráfico de RNA. Mutaciones en este gen se asocian clásicamente con atrofia muscular espinal con distrés respiratorio. Sin embargo, en los últimos años se identificaron casos de CMT2 AR asociadas a mutaciones en este gen [139–141].

Una única mutación en el gen que codifica la subunidad 25 del complejo coactivador transcripcional (*MED25*) fue descrita en 2009, relacionada con CMT2B2. El mecanismo patogénico por el cual causa daño en el nervio periférico no se conoce con exactitud. Además, no se identificó ninguna otra familia con mutaciones en este mismo gen, por este motivo, los autores revisaron nuevamente aquellas familias identificadas y realizaron un análisis del exoma en busca de nuevas variantes. En todos los casos en los que se había identificado una mutación en heterocigosis en el gen *MED25*, con el nuevo estudio se identificó una variante en homocigosis en el gen *PNKP*. Este gen se encarga de codificar una proteína reparadora de ADN, que sí parece ser la verdadera causa de CMT en estas familias [142,143].

Mutaciones en el gen *PLEKHG5* (*pleckstrin homology domain containing, family G with RhoGef domain member 5*), implicado en mecanismos de diferenciación celular pueden provocar formas intermedias de CMT [144,145].

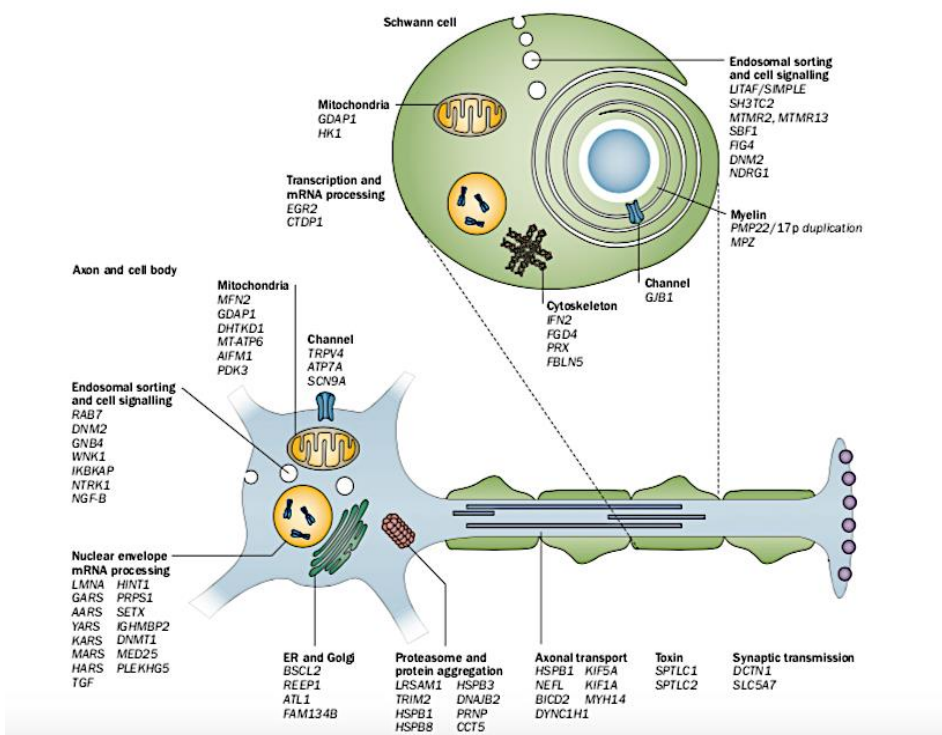
Otro gen implicado en los mecanismos de síntesis nucleotídica y metabolismo de las purinas asociado con CMT es *PRPS1* (*phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 1*). Este gen codifica la proteína fosforibosil-pirofosfato sintetasa 1, enzima que cataliza el primer paso en la síntesis nucleotídica y se asocia con CMTX5 [146].

## CANALES IÓNICOS

Las mutaciones en el gen *GJB1* (*gap junction protein, beta 1*) son la segunda causa más frecuente de CMT (10-20% CMTX) [68,147]. Este gen se localiza en el cromosoma X y codifica una proteína transmembrana de tipo gap, la conexina-32 (Cx32). Se encuentra en las incisuras de Schmidt-Lantermann y en la región paranodal e internodal. Esta proteína establece canales transmembrana a través de las vainas de mielina, lo que permite el tráfico de pequeñas moléculas de forma radial. Mutaciones en el gen *GJB1* pueden dar lugar a proteínas no funcionales o bien formar proteínas funcionales pero con alteración de sus características biofísicas. Existen más de 400 mutaciones causantes de CMTX1, la mayoría de ellas provocan una pérdida de función [148,149].

Las mutaciones en el gen *TRPV4*, codifica una proteína que conforma un canal catiónico no selectivo, con respuesta frente a estímulos ambientales físicos y químicos. Su expresión a nivel neuronal es muy baja; sin embargo, se postula que alteraciones en este canal iónico causan un aumento del calcio intracelular provocando una degeneración axonal secundaria. Mutaciones en el gen *TRPV4* se asocian con CMT2C, atrofia muscular espinal con fenotipo escápulo-peroneal y atrofia muscular espinal congénita [150].

FIGURA 4. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS DE CMT



[ADAPTADA DE ROSSOR., ET al. NAT.REV. NEUROL; 2013]

Figura obtenida a partir de Rosor et al. Nat. Rev. Neurol;2013;9:562-571. Con la autorización de Springer Nature (Nº Licencia 5036580412192).

TABLA 4. CLASIFICACIÓN ETIOPATOGÉNICA DE CMT

MECANISMO	CÉLULA SCHWANN	NEURONA Y/O AXON	PROTEINA	FENOTIPO
MIELINA	MPZ		<i>Myelin protein zero</i>	CMT1/CMT2/CMTI
	PMP22		<i>Peripheral myelin protein 22</i>	CMT1
	PMP2		<i>Peripheral myelin protein 2</i>	CMT1
CITOESQUELETO	DRP2		<i>Dystrophin 2</i>	CMTX
	FBLN5		<i>Fibulin 5</i>	CMT1
	FGD4		<i>Frabin</i>	CMT4
	INF2		<i>Inverted formin 2</i>	CMT1
	PRX		<i>Periaxin</i>	CMT4
TRANSPORTE AXONAL		DYNC1H1	<i>Dynein, cytoplasmatic 1, heavy chain 1</i>	CMT2/AME
		KIAA 1840	<i>Espatacsina</i>	CMT2/SPG11
		KIF5A	<i>Kinesin family member 5A</i>	CMT2/SPG10
		KIF1B	<i>Kinesin family member 1B</i>	CMT2
		NEFL2	<i>Neurofilament protein, light polypeptide</i>	CMT1/CMT2/CMTI
		TUBB3	<i>Tubulin beta 3</i>	CMT2
DINÁMICA MITOCONDRIAL		AIFM1	<i>Apoptosis-inducing factor</i>	Sd. Cowchock
		COX6A1	<i>Cytochrome C oxidase subunit 6-A1</i>	CMT1
		DHTKD1	<i>Dehydrogenase E1 and transketolase domains-containing protein 1</i>	CMT2
		GDAP1	<i>Ganglioside induced differentiation-associates protein 1</i>	CMT1/CMT2/CMTI
		HK1	<i>Hexokinase 1</i>	CMT4
		MFN2	<i>Mitofusin 2</i>	CMT2
		MT-ATP6	<i>Mitochondrial encoded ATP synthase membrane subunit 6</i>	CMT2
		PDK3	<i>Pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3</i>	CMTX
SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS	ARHGEF10		<i>Rho guanine nucleotide exchange factor 10</i>	CMT1
		BSCL2	<i>Seipin</i>	CMT2/NMhd
		DCAF8		CMT2



MECANISMO	CÉLULA SCHWANN	NEURONA Y/O AXON	PROTEINA	FENOTIPO	
		DGAT2	<i>Diacylglycerol acyltransferase 2</i>	CMT2	
		DNAJB	<i>DNA-J/Hsp40 homolog, subfamily B, member 2</i>	CMT2/NMHD	
		DNM2	<i>Dynamin 2</i>	CMT2/CMT1	
		FIG4	<i>FIG4</i>	CMT1	
		GNB4	<i>Guanine nucleotide-binding protein, beta 4</i>	CMT1	
		HSPB1	<i>Heat shock protein beta 1</i>	CMT2/NMHD	
		HSPB8	<i>Heat shock protein beta 8</i>	CMT2/NMHD	
		LITAF	<i>Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha</i>	CMT1	
		LRSAM1	<i>Leucine-rich repeat and sterile alpha motif containing 1</i>	CMT2	
		MME	<i>Membrane metalloendopeptidase</i>	CMT2	
		MTMR2	<i>Myotubularin-related protein 2</i>	CMT4	
		NAGLU	<i>N-Acetyl-Alpha-Glucosaminidase</i>	CMT2	
		NDRG1	<i>Nmyc downstream-regulated protein 2</i>	CMT4	
		RAB7A	<i>Ras-related protein 7A</i>	CMT2	
		SBF1	<i>SET-binding factor 1</i>	CMT4	
		SBF2	<i>SET-binding factor 2</i>	CMT4	
	MEMBRANA NUCLEAR Y PROCESAMIENTO mRNA		SH3TC2	<i>SH3 domain and tetratricopeptide repeat domain 2</i>	CMT4
			TRIM2	<i>Tripartite motif-containing protein 2</i>	CMT2
		VCP	<i>Valosin-containing protein</i>	CMT2	
		AARS	<i>Alanyl-tRNA synthase</i>	CMT2	
		EGR2	<i>Early growth response 2</i>	CMT1/CMT2	
		GARS	<i>Glycyl-tRNA synthetase</i>	CMT2/NMHD	
		HARS	<i>Histidyl-tRNA synthetase</i>	CMT2	
		HINT1	<i>Histidine triad nucleotide-binding protein 1</i>	CMT2	

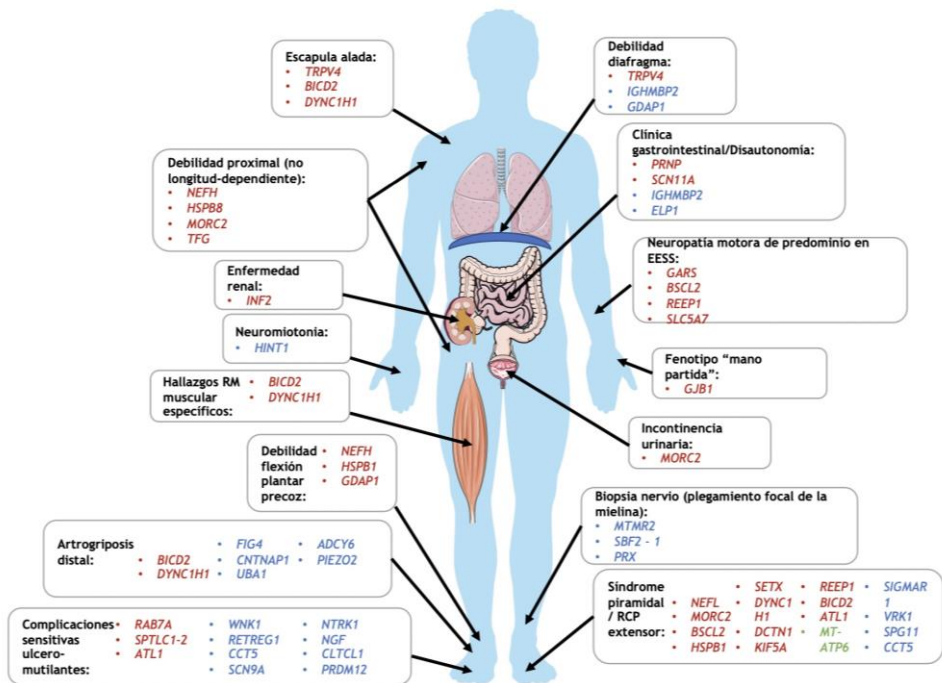
MECANISMO	CÉLULA SCHWANN	NEURONA Y/O AXON	PROTEINA	FENOTIPO
		IGHMBP2	<i>Inmunoglobulin mu-binding protein 2</i>	CMT2/NMhd
		KARS	<i>Lysyl-tRNA synthetase</i>	CMT1
		LMNA	<i>Lamin A/C</i>	CMT2
		MARS	<i>Methionyl-tRNA synthetase</i>	CMT2
		MED25	<i>Mediator complex subunit 25</i>	CMT2
		MORC2	<i>Morc2</i>	CMT2
		PLEKHG5	<i>Pleckstrin homology domain and RhoGEF domain-containing protein G5</i>	CMT1/AME
		PNKP	<i>Polynucleotide kinase 3-phosphatase</i>	CMT2
		PRPS1	<i>Phosphoribosylphosphate synthetase 1</i>	CMTX
		YARS	<i>Tyrosyl-tRNA synthetase</i>	CMT1
CANALES IÓNICOS	GJB1		<i>Gap junction protein beta 1/Connexin 32</i>	CMTX
		TRPV4	<i>Transient receptor potential cation channel, subfamily 5, member 4</i>	CMT2/MHd/AME

### 3.5 RELACIÓN GENOTIPO - FENOTIPO

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth clásicamente provoca una neuropatía sensitivomotora con un patrón longitud dependiente, un fenotipo común a múltiples variantes genéticas. Sin embargo, existen diversas características clínicas que pueden ayudar en el diagnóstico diferencial entre las diferentes variantes genéticas: la edad de inicio, síntomas predominantes, síntomas o signos en otras regiones corporales asociados, características clínicas adicionales, VCNM, hallazgos de resonancia magnética (ejemplo, la afectación de SNC en

CMTX1 o un patrón de daño muscular específico en diversos fenotipos de CMT) (Figura 5 y 6). Por último, los hallazgos del estudio histológico de nervio también pueden ayudar a interpretar variantes de significado desconocido o nuevos genes.

FIGURA 5. CMT: SIGNOS Y SÍNTOMAS ASOCIADOS



[Adaptación de Papis y colaboradores, Nat Rev Neurol; 2019].

Figura elaborada a partir de un banco de imágenes públicas (Servier Medical Art).

FIGURA 6. CMT: SIGNOS Y SÍNTOMAS EN LA REGIÓN CRANEAL

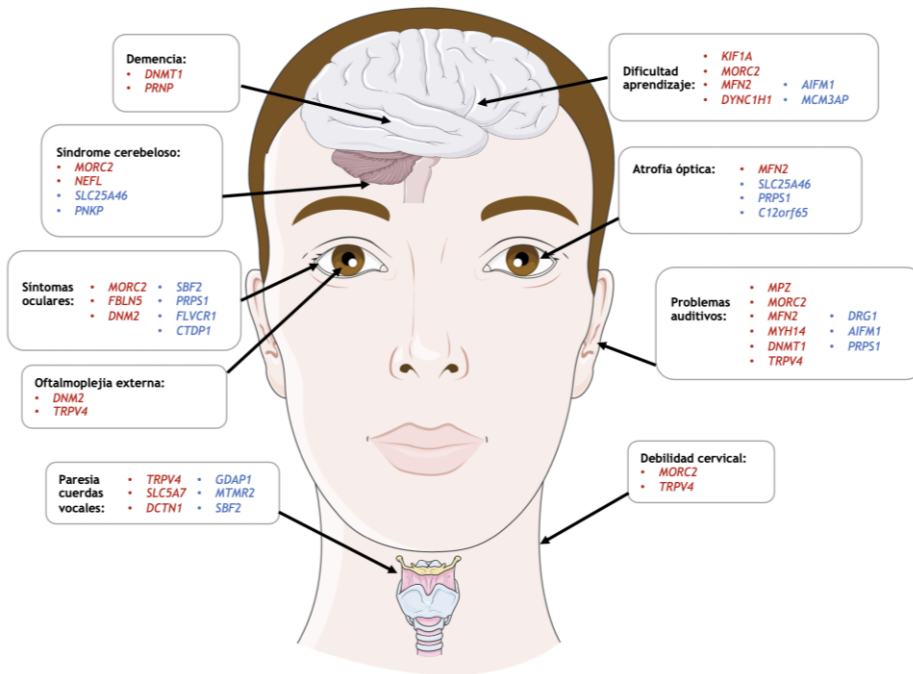


Figura 5 y 6. Características clínicas asociadas a determinados genotipos. Patrón de herencia dominante (rojo), herencia recesiva (azul), herencia mitocondrial (verde). Síntomas oculares asociados (*MORC2*: pigmentación retina; *FBLN5*: degeneración macular; *SBF2*: glaucoma; *PRPS1*: degeneración retina; *FLVCR1*: degeneración retina; *DNM2*: cataratas; *CTDP1*: cataratas).

[Adaptación de Pipis y colaboradores, Nat Rev Neurol; 2019].

Figura elaborada a partir de un banco de imágenes públicas (Servier Medical Art).

A continuación, procedemos a detallar las características fenotípicas más relevantes de los principales subtipos de CMT.

***PMP22: CMT1A, CMT1E***

CMT1A es la neuropatía hereditaria más frecuente, responsable del 70% de CMT1 y del 50% del total de CMT. Está causada por una duplicación de 1.5 millones de pares de bases en el brazo corto del cromosoma 17p11.1-p12, donde se localiza el gen *PMP22*, de herencia autosómica dominante.

CMT1A presenta un fenotipo clínico típico de "atrofia peroneal", sin embargo, existe una gran variabilidad clínica intra e interfamiliar. Hay casos que presentan un retraso en el inicio de la deambulación con deformidades esqueléticas muy marcadas desde una edad temprana; sin embargo, otros casos permanecen asintomáticos o paucisintomáticos hasta una edad más avanzada. La edad de inicio se sitúa en la primera o segunda década de la vida, habitualmente durante la infancia o la adolescencia. Los primeros signos de la enfermedad son la presencia de pie cavo o pie plano, dedos en martillo, arreflexia de extremidades inferiores y posteriormente aparecen la atrofia y debilidad de la musculatura distal. La atrofia distal del muslo, músculo peroneal y tibial anterior, dan lugar a un fenotipo de "patas de cigüeña" o "copa de champán invertida". La musculatura intrínseca de las manos también puede verse afectada causando una "mano en garra". Por norma general, los pacientes no refieren síntomas sensitivos; sin embargo, durante la exploración se encuentra una disminución de las modalidades sensitivas, sobre todo la sensibilidad vibratoria por lo que no es infrecuente que los pacientes refieran

inestabilidad. Aunque es un síntoma poco estudiado, no por ello menos frecuente, el dolor en los pacientes con CMT1A puede aparecer hasta en el 55-70% de los pacientes, siendo de origen multifactorial en la mayoría de casos [151].

La enfermedad progresa lentamente a lo largo de la vida; aunque los pacientes no suelen perder la capacidad de deambulación, sí es frecuente que precisen ortesis o sistemas de apoyo que faciliten la deambulación. El temblor en extremidades superiores, es un hallazgo frecuente en estos pacientes. El engrosamiento de nervios periféricos puede ser evidente a la palpación de nervio auricular o cubital. Otros hallazgos, son la presencia de escoliosis, hipoacusia neurosensorial no progresiva, síndrome de tunel carpiano y síndrome de apnea del sueño [152].

La ENMG muestra una polineuropatía sensitivomotora desmielinizante con un enlentecimiento uniforme de la velocidad de conducción nerviosa. No son habituales la presencia de bloqueos de conducción nerviosa ni fenómenos de dispersión temporal. Una velocidad de conducción nerviosa  $< 15$  m/s o de 15-35 m/s debe hacernos pensar en un CMT1A [153–155]. La amplitud del CMAP muestra una lenta y progresiva disminución, con una adecuada correlación entre la pérdida axonal y el déficit clínico. En la EMG de aguja, observamos signos de denervación activa con un patrón de reclutamiento simple neurogénico tras la activación voluntaria.

La biopsia de nervio es una técnica invasiva, hoy en día se utiliza en casos esporádicos para realizar el diagnóstico diferencial con polineuropatías adquiridas o en aquellos casos en los que no se puede confirmar el diagnóstico con otras técnicas. En el estudio histológico se observa una pérdida de fibras nerviosas mielínicas, con fenómenos de desmielinización y remielinización con proliferación concéntrica de las células de Schwann, dando lugar a la formación de bulbos de cebolla.

En los últimos años, las técnicas de imagen han ganado un espacio en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con enfermedades neuromusculares. CMT1A al igual que el resto de CMT presenta un curso evolutivo lentamente progresivo, por lo que las técnicas de imagen, en concreto la RM de músculo, puede ser de ayuda para realizar un control evolutivo. En CMT1A se objetiva una importante infiltración grasa y atrofia con un gradiente distal a proximal. La musculatura intrínseca del pie es la más afectada en la RM, incluso en aquellos casos clínicamente asintomáticos o mínimamente afectados. Además, observaremos una marcada atrofia e infiltración grasa de musculatura peroneal y tibial anterior. Otro hallazgo relativamente frecuente es la presencia de edema en la musculatura de las piernas, sin correlación clínica. Se han establecido diversas hipótesis que pudiesen justificar este edema, como la presencia de un componente inflamatorio sobreañadido [156,157].

Hasta la fecha, no existe ningún tratamiento farmacológico disponible que permita curar o revertir los síntomas de la enfermedad. En los últimos años, se han realizado diversos ensayos clínicos en pacientes con CMT1A cuyo objetivo es reducir la sobreexpresión de *PMP22*. El ácido ascórbico, un promotor de la mielinización, parecía mejorar la funcionalidad en ratones; sin embargo no ha demostrado un efecto significativo en pacientes con CMT1A [158,159]. Onapristona, un antagonista de la progesterona, demostró un efecto protector y regenerador axonal, sin embargo debido a su toxicidad y falta de seguridad no se ha comercializado como tratamiento en pacientes con CMT [160]. La terapia con oligonucleótidos antisentido administrados en el modelo animal de CMT1A ha dado buenos resultados, deberemos esperar para conocer el efecto en pacientes con CMT1A. Hasta el momento únicamente PXT3003, una combinación de baclofeno, naltrexona y sorbitol a altas dosis, parece haber demostrado efectos beneficiosos [161]. En los ensayos clínicos realizados demostró una mejoría en la puntuación en la escala CMTNS, ONLS, una reducción de la latencia distal y un incremento en la velocidad de conducción nerviosa sensitivomotora; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el CMAP. Por lo tanto, hasta la fecha, no existe ningún tratamiento que permita modificar el curso de la enfermedad. Un aspecto terapéutico importante en estos pacientes es el tratamiento rehabilitador que permite entrenar la marcha, ganar estabilidad, potenciar la musculatura y además ayuda a



prevenir comorbilidades como puede ser la ganancia ponderal. La terapia ocupacional también es un aspecto importante que permite a los pacientes con CMT ganar calidad de vida. Los dispositivos de ayuda para la deambulación, como las ortesis, permiten disminuir el esfuerzo físico en extremidades inferiores que realizan estos pacientes para deambular, mejorando la deambulación y evitando caídas [162].

Las deformidades esqueléticas, sobre todo el pie cavo, a veces requieren tratamiento quirúrgico, que permita lograr una estabilización o reducción del dolor. Se recomienda realizar cirugías mínimamente invasivas como la fasciotomía plantar, alargamiento del tendón de Aquiles, transferencia de tendones y/o corrección de dedos en martillo [163]. En todo caso, la cirugía ortopédica siempre será un tratamiento temporal, que permita mantener la movilidad durante el mayor tiempo posible, pero no va a modificar la progresión natural de la propia enfermedad.

Aunque la duplicación en el brazo corto del cromosoma 17p es la principal causa de CMT1A, también se han descrito mutaciones puntuales en el gen *PMP22* relacionadas con CMT (CMT1E). En la inmensa mayoría de casos, estas mutaciones puntuales conllevan una ganancia de función que resulta nociva para el nervio. Excepcionalmente, se puede observar una pérdida de función que se asociaría más frecuentemente con NHPP [164–166]. El fenotipo clínico puede ser muy variable, presentando desde un fenotipo de NHPP, fenotipo clásico de CMT1 o un cuadro superpuesto entre

ambos, formas graves de CMT1 (SDS, NHC) o CMT intermedio [28,167]. A pesar de lo mencionado, no es infrecuente que aquellos pacientes con CMT secundario a mutaciones puntuales en *PMP22* presenten un fenotipo más grave que CMT1A. Esta variabilidad fenotípica podría deberse al tipo de sustitución aminoacídica y localización de la misma [168,169].

### ***MPZ*: CMT1B, CMT2I, CMT2J, CMTDID, SDS, NHC**

La proteína cero (P0) de la mielina representa el 25% de todas las proteínas de la vaina de mielina y se expresa únicamente en las células de Schwann. Mutaciones en el gen *MPZ* localizadas en el cromosoma 1q22-q23 se asocian con neuropatías desmielinizantes de herencia AD (CMT1B). Son la segunda causa más frecuente de CMT1 y representan el 5% de CMT. Hay más de 200 mutaciones patogénicas asociadas al gen *MPZ* [170–172].

A pesar de que P0 únicamente se expresa en las células de Schwann, el fenotipo clínico asociado con mutaciones en este gen es muy heterogéneo. Podemos encontrar neuropatías desmielinizantes congénitas (SDS, neuropatía hipomielinizante congénita) con VCN <10m/s, neuropatías desmielinizantes de inicio infantil (CMT1B), formas intermedias o neuropatías de inicio adulto con VCN  $\geq$ 38m/s consideradas CMT2 (CMT2I o CMT2J). Esta variabilidad clínica probablemente esté determinada por el tipo de mutación y su localización [30,31,171,173–177]. La proteína cero de la mielina es

una proteína transmembrana con tres dominios (extracelular, transmembrana y dominio citoplasmático). Se cree que las formas desmielinizantes de inicio precoz están causadas por mutaciones que alteran el plegamiento de la proteína o alteran el transporte intracelular, interfiriendo en el proceso de mielinización precoz. Mientras que, mutaciones en *MPZ* asociadas con CMT2 se presupone que afectan a la vaina de mielina alterando las interacciones entre la célula de Schwann y el axón.

Las formas congénitas suelen mostrar un fenotipo grave. En función de los hallazgos histopatológicos, podemos hablar de: 1) SDS de herencia AR en el que se observa una neuritis hipertrófica intersticial [178], o bien 2) una NHC en la cual es característica la ausencia de mielina en el nervio periférico. En este grupo de pacientes, es frecuente que presenten un retraso en el desarrollo de la marcha hasta los 15 meses de edad y los primeros síntomas aparecen antes de los 5 años [172]. Estos niños presentan una marcada debilidad muscular con hipotonía, deformidades óseas e incluso puede existir compromiso de la función respiratoria o de la deglución. En función de la mutación identificada es posible observar un desarrollo motor normal durante los primeros meses de vida y un deterioro clínico posterior [176]. La ENMG muestra una neuropatía sensitivomotora desmielinizante con una VCNM muy enlentecida < 10 m/s y con amplitud del CMAP y PSE conservadas. El hallazgo

distintivo entre ambas entidades, estará determinado por el estudio histológico donde observamos ausencia de mielina en la NHC.

En las formas de inicio infantil, la enfermedad comienza entre los 6 y 20 años. En este caso, el cuadro clínico es el de una neuropatía sensitivomotora desmielinizante con un fenotipo típico de CMT. La ENMG muestra una VCN en rango desmielinizante entre 15-35 m/s.

Las formas de inicio adulto, donde los primeros síntomas aparecen a partir de la cuarta década, son formas leves. Los síntomas sensitivos pueden predominar y la debilidad distal progresa lentamente causando una discapacidad leve. El dolor neuropático puede ser un dato clínico relevante en un elevado porcentaje de casos [177,179]. En estos pacientes la VCN suele ser normal con amplitudes motoras y sensitivas en rango axonal [31]. El estudio histológico muestra una pérdida axonal [170]. Frecuentemente, las formas de inicio tardío pueden asociar otros síntomas como son las alteraciones pupilares (pupila de Adie, Argyll-Robertson), hipoacusia neurosensorial, dolor prominente o disfagia tardía [180].

Un dato importante en la ENMG es que en ninguno de los fenotipos descritos es habitual la presencia de bloqueos de conducción nerviosa ni datos de dispersión temporal. Las formas desmielinizantes con VCN muy enlentecidas son características del SDS o de la NHC; mientras que, las VCN normales o en rango intermedio son más frecuentes en el adulto (CMT2I o CMT2J).

Diferentes estudios publicados hasta la fecha, identifican muy pocos pacientes con el fenotipo clásico de CMT (CMT1B) en pacientes con mutaciones en *MPZ*. Los dos grandes grupos de pacientes con CMT y mutaciones en dicho gen se pueden englobar en aquellos con formas de inicio muy precoz por daño en el proceso de mielinización durante el desarrollo (SDS) y aquellos con formas de inicio tardío donde el daño se sitúa principalmente en el axón [170,172].

### ***EGR2*: CMT1D, CMT4E, CMT2, SDS, NHC**

La proteína de respuesta temprana al crecimiento 2 codificada por el gen *EGR2*, es un factor de transcripción con tres dedos de zinc de unión al ADN. Esta proteína es uno de los factores de transcripción más importantes que marcan la transición del estado de promielinización al estado de mielinización en el desarrollo de las células de Schwann. Se encarga de activar la transcripción de varios genes asociados a la mielina, incluyendo *MPZ*, *Cx32*, *PRX* y *PMP22*. No es extraño, que mutaciones en este gen puedan asociarse con fenotipos similares a aquellas mutaciones en *MPZ*, *Cx32* o *PMP22*. La mayoría de las mutaciones identificadas en este gen se encuentran en uno de los anillos de zinc de unión al ADN y se pueden heredar de forma AD o AR [129,181].

Mutaciones en el gen *EGR2* representan menos del 1% de las formas desmielinizantes de CMT. Clásicamente, mutaciones en este

gen se han asociado con CMT1D, síndrome de Déjerine-Sottas o con neuropatía hipomielinizante congénita [181,182]. En 2015 Sevilla y colaboradores, describieron la primera mutación en este gen asociada a un fenotipo de CMT2, con un inicio en la edad adulta y grado de afectación variable. Desde entonces se han identificado nuevas familias con mutaciones en *EGR2* y fenotipo axonal [130,183]. Hasta en el 60% de casos con mutaciones en *EGR2* podemos observar implicación de pares craneales (hipoacusia neurosensorial, parálisis facial o afectación de cuerdas vocales). También en estos pacientes se puede identificar un compromiso respiratorio en forma de enfermedad pulmonar restrictiva, neumonías recurrentes o fracaso respiratorio. Recientemente se ha identificado un caso con CMT y mutaciones en *EGR2* con signos piramidales en la exploración [184–186].

La ENMG muestra velocidades de conducción nerviosa en rango desmielinizante, más enlentecidas (<10 m/s) en aquellos pacientes con un cuadro de inicio precoz y con VCNM más altas en los fenotipos de inicio más tardío. Las VCN será normal (>38 m/s) en pacientes con una edad de inicio tardío y fenotipo CMT2.

### ***NEFL: CMT1F, CMT2E***

Los neurofilamentos son las proteínas más importantes del citoesqueleto. Mutaciones en el gen *NEFL*, localizado en el cromosoma 8p21, se asocian con CMT1, CMT2 o CMTI de herencia AD o AR.

Se han identificado diversas mutaciones en este gen asociadas con CMT, representando menos del 1% de los casos de CMT. El cuadro clínico es ampliamente variable. La inmensa mayoría de pacientes presenta un fenotipo clásico de CMT con un grado de discapacidad también variable. No es infrecuente observar asociación con ataxia, disartria o nistagmus lo que puede llevar al diagnóstico diferencial de Ataxia de Friedreich u otras. Otros signos o síntomas menos frecuentes que podemos observar son la hipoacusia, debilidad facial, la discapacidad intelectual o signos piramidales. El comienzo de la enfermedad se sitúa habitualmente entre la segunda y la tercera década de la vida, aunque podemos observar pacientes con un comienzo más precoz o casos de inicio en la quinta década de la vida [187,188]. El fenotipo clínico y edad de comienzo son ampliamente heterogéneos; desde un fenotipo grave con retraso en la adquisición de hitos motores y necesidad de ortesis desde edades precoces hasta casos adultos que desarrollan un fenotipo grave que requiere silla de ruedas [52,53,55,57,189].

La ENMG puede mostrar una VCN enlentecida en rango desmielinizante (CMT1F), formas con VCN intermedia o casos con VCN normal con disminución de la amplitud del CMAP (CMT2E). En la EMG de aguja podemos observar fasciculaciones espontáneas en musculatura de cinturas en algunos casos [52].

El estudio histopatológico muestra una reducción de las fibras mielínicas con signos variables de regeneración axonal, plegamientos irregulares de la mielina y ocasionalmente formación de bulbos de cebolla, sin tomácúlas [57,190].

### ***SH3TC2: CMT4C***

Mutaciones en el gen *SH3TC2* (conocido también como *KIAA1985*), localizado en el cromosoma 5q, son la causa más frecuente de CMT de herencia autosómica recesiva conocidos hasta este momento. Se describen tanto en pacientes de etnia romaní como en pacientes caucásicos [147,191]. Se trata de una neuropatía desmielinizante que comienza en la infancia o adolescencia e incluso en algunos casos podemos observar un retraso en la adquisición de hitos motores.

Clínicamente provoca un fenotipo de neuropatía moderada a grave. Se puede observar una escoliosis dorsal grave que en algunos casos puede causar compromiso respiratorio; e incluso se ha asociado con neuropatía craneal (alteración oculomotora, parálisis facial, hipoacusia neurosensorial, afectación de nervio hipogloso con amiotrofia lingual y dificultad para la deglución). La escoliosis de inicio precoz se puede considerar un hallazgo característico, aunque no específico, de CMT4C que puede anteceder en varios años al inicio de la neuropatía. Otros hallazgos que pueden estar presentes en estos pacientes son: 1) debilidad proximal de las extremidades, 2) componente inflamatorio sobreañadido, con la presencia de dispersión temporal y bloqueos de conducción nerviosa en la ENG, así como 3) disociación albúmino-citológica en LCR [192–194]. Recientemente Skott y colaboradores publican cinco pacientes con una neuropatía sensitivomotora predominantemente desmielinizante en los que el



síntoma prominente era la ataxia, por lo que en dos de los casos se habían diagnosticado de una ataxia de Friedreich; finalmente la ausencia de otros signos o síntomas sistémicos que justificasen el diagnóstico previo y el estudio molecular permitió confirmar el diagnóstico de CMT4C [195]. Todo ello, nos permite ampliar la variabilidad fenotípica en pacientes con CMT4C.

La ENMG muestra una neuropatía sensitivomotora con valores de VCNM en rango desmielinizante o intermedio, sobre todo en extremidades inferiores. No es infrecuente la presencia de dispersión temporal o bloqueos de conducción nerviosa, más típicos de neuropatías inflamatorias, así como un daño predominante en nervios sensitivos [196,197].

El estudio histológico muestra un aumento de membranas basales, estructuras similares a bulbos de cebolla y prolongaciones citoplasmáticas en las células de Schwann.

### ***NDRG1*: CMT4D**

Mutaciones en el gen *NDRG1* son la tercera causa de CMT desmielinizante de herencia AR en población de etnia romaní en España [79]. La neuropatía de Lom o CMT4D, se describió por primera vez en una comunidad gitana cerca de Lom (Bulgaria) y posteriormente se identificaron diversas comunidades de etnia gitana portadores de CMT4D a lo largo de Europa.

El fenotipo clínico característico es una neuropatía de inicio en la primera década de la vida, cursando con debilidad distal en extremidades inferiores y trastorno de la marcha. En la segunda década aparece debilidad en extremidades superiores y a lo largo de la tercera década se desarrolla una hipoacusia neurosensorial.

La ENMG es compatible con una neuropatía desmielinizante con VCNM muy enlentecida.

De forma similar a lo que ocurre en CMTX1, la proteína NDRG1 puede expresarse en oligodendrocitos, por lo que no es infrecuente encontrar un enlentecimiento de la conducción motora central en pacientes con CMT4D e incluso alteraciones en la RM de SNC en forma de hiperseñales subcorticales en la sustancia blanca [107,198].

El estudio histológico muestra una marcada reducción de las fibras mielínicas, bulbos de cebolla, signos de desmielinización-remielinización, así como depósitos pleomórficos en el espacio periaxonal.

### ***HK1: CMT4G (Neuropatía de Russe)***

Las mutaciones en el gen de la hexokinasa 1 (*HK1*) son responsables de la neuropatía de Russe o CMT4G. Es la segunda causa más frecuente de CMT desmielinizante de herencia AR en población de etnia romaní en España (24%) [79]. Descrito por primera vez al norte de Bulgaria en la ciudad de Russe, junto al río Danubio.

La neuropatía de Russe, predominantemente motora, se caracteriza por un retraso en el desarrollo de los hitos motores. La debilidad distal en extremidades inferiores comienza a una edad temprana y posteriormente estos pacientes desarrollan debilidad de extremidades superiores entre los 10-40 años, a lo cual se asocia una pérdida de todas las modalidades sensitivas. Aproximadamente en la cuarta o quinta década de la vida, los pacientes presentan una debilidad distal completa en las cuatro extremidades.

La ENG evidencia una neuropatía sensitivomotora con velocidades de conducción nerviosa motora en un rango intermedio. La amplitud del potencial de acción muscular compuesto muestra un descenso progresivo a medida que avanza la debilidad y atrofia muscular. Un hallazgo característico es la presencia de un umbral de estimulación eléctrica anormalmente elevado.

El estudio histológico muestra una pérdida de fibras mielínicas con una elevada actividad regenerativa y múltiples fibras mielínicas anormalmente delgadas en comparación con el diámetro del axón [78,199].

### ***MFN2: CMT2A***

Mutaciones en el gen de la mitofusina 2 (*MFN2*) son la causa más frecuente de CMT2 (CMT2A), alcanzando un 20% de los casos de CMT2 en algunas series.

Los pacientes con CMT2A presentan un patrón de herencia AD, aunque también se publicaron casos de herencia AR. En este momento, existen más de 100 variantes patogénicas en el gen *MFN2*. Aquellas variantes que se generan en dominios que no conllevan una pérdida de función y que no afectan a la expresión de la proteína *MFN2* son considerados polimorfismos; esto podría explicar la gran cantidad de polimorfismos que existen en este gen. La mayoría de mutaciones tienen un patrón de herencia AD, sin embargo, hay casos con mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas con un patrón AR o pseudodominante [70,200,201].

Clínicamente estos pacientes presentan un fenotipo típico de CMT (dificultad para la marcha, debilidad y amiotrofia distal predominantemente en extremidades inferiores, aunque hasta la mitad de los casos pueden presentar síntomas motores distales en extremidades superiores, hipoestesia y deformidades esqueléticas); sin embargo, este fenotipo suele ser más grave comparado con CMT1A. Según la edad de comienzo de la enfermedad, se diferencian dos fenotipos clínicos: 1) un fenotipo grave de inicio precoz (< 10 años) y 2) un fenotipo leve de inicio más tardío (>10 años) [65,202]. Además del cuadro típico de CMT, mutaciones en *MFN2* se asocian con otros signos y/o síntomas, como pueden ser: signos piramidales, neuropatía óptica con atrofia óptica, escoliosis grave, temblor postural, hipoacusia neurosensorial, contracturas articulares, paresia de cuerdas vocales (también observada en CMT2C, CMT4A, CMT4C, CMT4F,

CMT4B1) e incluso insuficiencia respiratoria [203]. Al igual que ocurre en CMTX1, mutaciones en *MFN2* se pueden asociar con hiperseñales, de curso no progresivo, en el parénquima cerebral visibles en secuencias T2 y FLAIR de la RM; e incluso, atrofia de la médula espinal [204,205].

En la ENG podemos observar una reducción en la amplitud del CMAP y del PSE con VCNM conservada (VCNM en nervio mediano 37-38 m/s). El estudio histológico muestra una pérdida de fibras mielinizadas, regeneración y alteraciones mitocondriales.

### ***GAP1*: CMT2K, AR-CMT2, CMT4A, CMTRIA**

Las mutaciones en el gen *GAP1*, localizado en el cromosoma 8q13-q21 presentan marcada variabilidad fenotípica. Mutaciones en este gen pueden heredarse de forma AD o AR y el fenotipo clínico va a depender del tipo de herencia [206].

Las formas de herencia AR desmielinizantes, axonales o intermedias (CMT4A, AR-CMT2, CMTRIA) se caracterizan por ser una neuropatía de comienzo precoz y fenotipo grave. En la mayoría de los casos la debilidad de inicio distal progresa a proximal provocando una importante discapacidad antes de la segunda década de la vida, por lo que estos pacientes van a requerir una silla de ruedas. Además un elevado porcentaje de casos desarrollan paresia de cuerdas vocales y parálisis diafragmática [207,208]. En la ENG se observa un patrón

desmielinizante, axonal o intermedio siendo característico una caída de amplitud motora y sensitiva de forma muy precoz [206,209–211].

Las formas de herencia AD (CMT2K) presentan un fenotipo más leve con un comienzo en edad infantil o en edad adulta. La enfermedad comienza con debilidad distal en extremidades inferiores de curso indolente. La paresia de cuerdas vocales o parálisis diafragmática es menos frecuente que en las formas de herencia AR. En la ENG se observa una neuropatía axonal [76,212–214].

El estudio histológico muestra una pérdida de fibras mielínicas, adelgazamiento de la vaina de mielina, clusters regenerativos, plegamientos anómalos de la mielina y ocasionalmente tomáculas. En las formas AD el estudio de microscopía electrónica evidencia una agregación anómala de mitocondrias concordante con el mecanismo patogénico de *GDAP1*.

La prevalencia de mutaciones en el gen *GDAP1* difiere en las diversas series publicadas. Mientras en España o Finlandia, las mutaciones en este gen pueden representar el 13-14% de la población con CMT, en otras series (Reino Unido, Alemania) representan < 2% de CMT [76,215].

### **MORC2: CMT2Z**

La primera descripción de mutaciones en el gen *MORC2* asociadas con CMT fue realizada por Sevilla y colaboradores en 2016. Identificaron 3 familias con una neuropatía sensitivomotora axonal, de

herencia AD [134]. Desde entonces, han sido diversas las publicaciones de familias o casos esporádicos de CMT2 con mutaciones en este gen. *MORC2* pertenece a la familia de proteínas *microorchidia* (MORC) y se ha postulado que participa en mecanismos de reparación de ADN.

El cuadro clínico típico comienza en la infancia o edad adulta precoz, donde predominan los calambres y la debilidad distal en extremidades inferiores, que puede ser asimétrica. Posteriormente, a lo largo de la evolución, puede aparecer debilidad distal en extremidades superiores. A diferencia de otros fenotipos de CMT, durante la evolución de la enfermedad se puede observar debilidad proximal tanto de cintura pélvica como de cintura escapular, provocando una importante discapacidad en la edad adulta. Es frecuente la presencia de pies cavos y escoliosis. Se han publicado casos aislados de inicio en la infancia precoz o al nacimiento cursando con un fenotipo similar a una atrofia muscular espinal [134,216]. Otros hallazgos que pueden sugerir mutaciones en el gen *MORC2* son la ataxia cerebelosa e hipoventilación nocturna [217], fenotipo AME con atrofia cerebelosa y parálisis diafragmática o signos piramidales [135,218].

La neurografía en estos pacientes muestra una VCNM normal con disminución en la amplitud del CMAP, de forma asimétrica y predominantemente en extremidades inferiores. La EMG de aguja muestra un proceso neurogénico crónico con importante actividad espontánea (fasciculaciones y mioquimias) que se puede observar tanto en músculos distales como proximales.

La histología muestra una importante pérdida de fibras, que puede ser de apariencia multifocal. En el estudio de RM muscular es característica la relativa preservación de musculatura profunda del compartimento posterior de la pierna [134,216].

### ***MME: CMT2T***

En los últimos años se han identificado que las mutaciones en el gen que codifica la neprelisina, una metalloendopeptidasa (*MME*) de membrana, podían ser una nueva causa de CMT2. Esta proteína en el SNC se encarga de la degradación del  $\beta$ -amiloide, sin embargo, se desconoce su función en el SNP. El patrón de herencia puede ser AD o AR [110,111].

El fenotipo clínico se caracteriza por ser una neuropatía sensitivomotora, de predominio motor con una edad de inicio tardío (habitualmente por encima de los 40 años). Los pacientes pueden presentar deformidad distal en extremidades inferiores desde edades precoces, sin embargo, la debilidad de inicio distal en extremidades inferiores suele aparecer en la quinta década de la vida, con incapacidad progresiva para la flexión dorsal de los pies. Las quejas sensitivas pueden aparecer en forma de una pérdida de las modalidades sensitivas o como parestesias distales en extremidades inferiores. Los calambres y las fasciculaciones suelen ser un dato frecuente en la historia clínica. A medida que progresa la enfermedad



la afectación sensitiva se hace más evidente y los reflejos desaparecen, causando importantes limitaciones para la deambulación [219].

La ENMG muestra una neuropatía axonal de predominio motor con abundante denervación activa.

### ***GJB1: CMTX1***

CMTX1 es la segunda causa más frecuente de CMT (10-20% de los casos). Está causada por una pérdida de función en el gen *GJB1*, el cual codifica la conexina 32 (Cx32), localizado en el cromosoma Xq13.1. CMTX1 puede estar causado tanto por mutaciones puntuales en regiones codificantes, mutaciones en regiones no codificantes del gen, o por delección del mismo [148,220–222].

La enfermedad en los varones se inicia en la primera o segunda década de la vida, mostrando un fenotipo de neuropatía grave. Clínicamente provoca debilidad distal e hipoestesia; sin embargo, no es infrecuente la presencia de síntomas sensitivos positivos como puede ser el dolor. Los síntomas afectan de forma precoz a las manos, observando con frecuencia mayor atrofia de musculatura de eminencia tenar que la atrofia observada en el primer interóseo dorsal, fenotipo conocido como “mano partida” [223]. A diferencia de la neuropatía grave que observamos en los hombres; en las mujeres portadoras de mutaciones en el gen *GJB1* el fenotipo es mucho más heterogéneo. Hasta dos tercios de las pacientes pueden mostrar un fenotipo clínico leve con signos o síntomas mínimos de neuropatía y sin progresión.

Un tercio de los casos presenta una forma más grave de enfermedad con una lenta progresión a lo largo de la vida. Un pequeño porcentaje de casos no muestran signos ni síntomas de enfermedad. Aunque no puede explicarse completamente la causa de esta variabilidad fenotípica en las mujeres, se cree que es debida a la inactivación del cromosoma X en algunas de las células de Schwann. Debido a la expresión de la conexina 32 en los oligodendrocitos del SNC, no es infrecuente que los pacientes con CMTX1 asocien signos o síntomas que implican al SNC (daño de la vía auditiva o de la vía visual, lesiones en sustancia blanca de SNC en la RM, episodios transitorios de focalidad neurológica o cuadros sugestivos de encefalomiелitis aguda diseminada) [224–227]. Otros signos o síntomas que podemos observar son: temblor, torpeza manual, inestabilidad de la marcha, pie cavo o escoliosis. Es frecuente que los pacientes requieran ortesis sin embargo es poco frecuente la necesidad de silla de ruedas [149].

En la ENMG también podemos encontrar diferencias entre ambos sexos. La velocidad de conducción nerviosa motora se encuentra enlentecida de forma focal, mostrando valores intermedios. En varones la VCNM está en 30-40 m/s, mientras que en las mujeres se sitúa entre los 30-50 m/s. Podemos observar una reducción en la amplitud del CMAP y del PSE, menos marcada en las mujeres afectando de forma preferente al nervio mediano. El aumento de la latencia de la onda F y la dispersión temporal son hallazgos frecuentes en estos pacientes [149,228–230].

***BSCL2: CMT2D***

El gen *BSCL2* se identificó por primera vez en pacientes con lipodistrofia congénita generalizada tipo 2. Este gen codifica una proteína del retículo endoplásmico llamada seipina. Dos mutaciones en este gen (N88S, S90L) se asocian con diferentes fenotipos clínicos, conocidos como "seipinopatías motoras" de herencia AD. Los fenotipos de neuropatía asociados con mutaciones en el gen *BSCL2* son heterogéneos, pudiendo establecer cierto grado de relación genotipo-fenotipo [231–233]. La mutación N88S se asocia con diferentes fenotipos clínicos: 1) neuropatía motora hereditaria tipo V (31% de casos), donde predomina la debilidad y amiotrofia en musculatura intrínseca de las manos, simétrica o asimétrica, pie cavo, debilidad peroneal y piramidalismo; 2) Síndrome de Silver (15% de casos) que cursa con paraparesia espástica, debilidad y amiotrofia predominante en musculatura de las manos; 3) en un 20% de casos se relaciona con una neuropatía axonal tipo CMT2 donde afecta predominantemente a la musculatura de las manos con piramidalismo pero sin espasticidad [234–236]. La mutación S90L se asocia más frecuentemente con cuadros de espasticidad grave y debilidad en extremidades inferiores, aunque también se han descrito formas de CMT2 con piramidalismo [237]. Hasta la fecha, se desconoce como una misma mutación puede causar diferentes fenotipos, posiblemente existen factores epigenéticos que modifican el fenotipo.

### 3.6 EPIDEMIOLOGÍA DE CMT

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth se considera una enfermedad rara (menos de 5 casos/10.000 habitantes); sin embargo, es la neuropatía hereditaria más frecuente, con una prevalencia de 10 a 28 casos/100.000 habitantes. A pesar de ser la neuropatía hereditaria más frecuente, son escasos los estudios de prevalencia realizados hasta el momento, estimando una prevalencia ampliamente variable según la región estudiada (rango de 9.7 casos/100.000 a 82.3 casos/100.000 habitantes) [19,238,239]. En España podemos citar las series descritas por Combarros y colaboradores (Cantabria), Sivera y colaboradores en la Comunidad Valenciana y más recientemente Lousa y colaboradores en Gran Canaria. Tanto el estudio de Combarros como el estudio de Lousa estiman una prevalencia similar, de 28,2 casos/100.000 habitantes en el primero de ellos y de 30,08 casos/100.000 habitantes en el segundo [240,241].

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth es un síndrome clínica y genéticamente heterogéneo. En los últimos años, gracias al avance en las técnicas de diagnóstico molecular, se identificaron más de 80 genes relacionados con la enfermedad y es previsible que este número aumente exponencialmente en los próximos años [12,20,242]. La gran complejidad molecular de CMT es una de las principales causas por la que los estudios epidemiológicos de este síndrome son escasos. Además, los estudios de prevalencia realizados en diferentes países muestran resultados poco reproducibles, probablemente debido a que

se utiliza una metodología diferente e incluso pueda influir la dificultad en la identificación y/o diagnóstico de pacientes con CMT. Posiblemente, por este motivo, las diversas series publicadas se centran en realizar un análisis descriptivo de los diferentes subtipos de CMT identificados, más que un estudio epidemiológico estricto. En el 90% de los casos de CMT con diagnóstico molecular vamos a encontrar una mutación en los genes *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *MFN2* y/o *GDAP1* [23,68,147,243]. Esta información, así como ciertos rasgos del fenotipo y los hallazgos de la ENMG, permiten aumentar el rendimiento del diagnóstico molecular.

A continuación, se realiza una breve descripción de las series de CMT publicadas en los últimos 25 años:

### **CMT EN REINO UNIDO**

En Reino Unido se han publicado diversas series de CMT, donde se realiza una descripción epidemiológica de la enfermedad y/o una descripción detallada de la frecuencia genética de diferentes subtipos de CMT.

En 1994 MacMillan y colaboradores publicaron un estudio con una detallada descripción de la población con CMT en el Sur de Gales entre 1989 y 1991. Se identificó una población total de 133 casos (49 familias), de los cuales 123 eran adultos (> 16 años). En este estudio se observó una prevalencia total de 18,1 casos/100.000 habitantes. Al igual que en la mayoría de estudios realizados hasta el momento, la

prevalencia de CMT1 fue mucho mayor (10,9 casos) que en el caso de CMT2 (2,7 casos) [244].

En 2012 Foley publica la prevalencia de CMT en el Norte de Inglaterra (Northumberland, Durham, Cumbria, Yorkshire, Lancashire), con una población de 2,99 millones de habitantes a fecha del 1 de septiembre de 2010. La prevalencia de CMT en este estudio fue de 15,2 casos/100.000 habitantes, prevalencia combinada de CMT y NHPP de 11,8 casos/100.000 habitantes. En este estudio se identificaron 222 casos de CMT (CMT1 56,7%, CMT2 39%, CMTX 8,9%) [245].

En ese mismo año, Murphy y colaboradores publican una amplia serie de pacientes con CMT, registrados en la base de datos del Hospital Nacional desde el año 2006. En este estudio realizan una detallada descripción de los diferentes subtipos de CMT evaluados. Se identificaron 425 pacientes, de los cuales CMT1 fueron 240 casos, CMT2 115 casos, CMTI 62 casos y en 8 casos no fue posible realizar una clasificación exacta. El diagnóstico molecular se alcanzó en el 62% del total (N=266), con un mayor éxito en CMT1 (80%) que en CMT2 (25%). En el 92% de los pacientes con diagnóstico molecular se detectó una mutación en *PMP22*, *GJB1*, *MFN2* o *MPZ* [23].

## **CMT EN SUECIA**

En 1992 Holmberg publicó un estudio de la prevalencia de CMT observada en el Norte de Suecia entre 1988-1991. Se identificaron 114

pacientes (52 familias) con CMT (intervalo de edad 6–85 años, edad media 38 años), con una prevalencia de 20,1 casos/100.000 habitantes. Las formas de CMT1 también fueron más prevalentes que CMT2 (84 casos de CMT1, 16 pacientes con CMT2) [246]. En 1983 se había realizado un estudio epidemiológico de CMT en población pediátrica (2–15 años) en el área sureste de Suecia. La prevalencia mostrada en este caso fue muy similar a la prevalencia descrita por Holmberg, con 19 casos/100.000 habitantes.

#### **CMT EN DINAMARCA:**

En Dinamarca se han publicado dos estudios sobre la prevalencia y frecuencia genética de CMT en los últimos años. El primero, publicado por Vaeth y colaboradores consistió en un estudio epidemiológico realizado mediante un registro nacional de mortalidad, prevalencia e incidencia desde 1977 a 2012. Se incluyeron un total de 2065 casos con CMT, de los cuales se excluyeron 535. El análisis final incluyó 1534 pacientes, con una prevalencia estimada de 22,5 casos/100.000 habitantes, con una mayor prevalencia en el grupo de más de 70 años (45,2 casos/100.000 habitantes). Recientemente este mismo autor publicó el resultado de la implementación de NGS para el diagnóstico molecular de CMT en Dinamarca, con un 5,6% de incremento en el rendimiento diagnóstico de esta enfermedad [247,248].

### **CMT EN ITALIA:**

Lorefice en 2017 publica el estudio más amplio sobre la frecuencia de CMT realizado en Italia (en la isla de Cerdeña). Se identificaron un total de 1043 sujetos con CMT (38 familias). Aunque este estudio no menciona la prevalencia de CMT en esta región, resulta interesante analizar los diferentes subtipos de CMT encontrados. Se detectaron 474 pacientes con CMT1 (45%), de los cuales se alcanzó un diagnóstico molecular en el 50% de los casos (N=241). De los pacientes con CMT2 (35%, N=360) se realizó el diagnóstico molecular en el 39% (N=186). Un 20% de los casos fueron pacientes con NHPP. En el grupo de pacientes con CMT1, las mutaciones más frecuentes se identificaron en *PMP22*, *GJB1* y *SH3TC2*. En el grupo de CMT2, las mutaciones más frecuentes se identificaron en *MPZ*, *GJB1*, *MFN2*, *HSPB1* y *LRSAM1*. De forma similar a otras series, en la región de Cerdeña los genes más frecuentemente implicados en CMT son *PMP22*, *GJB1*, *MFN2* y *MPZ* [249].

En 2014 Manganelli publica un estudio sobre la frecuencia de los subtipos de CMT en el Sur de Italia. Se trata de un estudio descriptivo que abarca el periodo de 1998 a 2013 en la provincia de Campania (capital Nápoles). Se detectaron 197 casos; de los cuales, CMT1 fueron el 55,3%, CMT2 un 28% y NHPP un 16,7%. El diagnóstico molecular se alcanzó en un 75% de los casos, con una ratio CMT1/CMT2 de 85%/47,2%. Al igual que en otras series publicadas,



mutaciones en los genes *PMP22*, *GJB1*, *GDAP1* y *MPZ* fueron las más frecuentes de CMT. Las formas desmielinizantes más prevalentes fueron CMT1A (*PMP22*) y CMT1B (*MPZ*) en los casos familiares y CMT4C (*SH3TC2*) en aquellos casos esporádicos. En el grupo de CMT2, las mutaciones más frecuentes se encontraron en el gen *GJB1* y en *GDAP1* [250].

Por último, mencionar el estudio epidemiológico realizado por Morocuti y colaboradores en Molise, una pequeña región ubicada en la Italia meridional. Se identificaron 90 pacientes con CMT (13 familias) entre los años 1998 y 2000. En esta región la prevalencia de CMT se estimó en 17,5 casos/100.000 habitantes. El análisis descriptivo demostró un 86% de formas desmielinizantes, confirmándose el diagnóstico molecular de CMT1A en el 64% de los casos [251].

### **CMT EN NORUEGA:**

La prevalencia estimada de CMT en la provincia de Akershus (Noruega) fue de 82,3 casos/100.000 habitantes, la más alta descrita hasta el momento. Se diagnosticaron 245 pacientes con CMT (116 familias). El estudio neurofisiológico fue concluyente en un 76,4% de los casos (CMT1 49%, CMT2 47% y CMTI un 4%). Las mutaciones identificadas en este estudio fueron: 1) duplicación en el gen *PMP22* en el 20% de casos, *GJB1* 5% de los casos, *MFN2* en el 3,2% y *MPZ* en el 1% [238].

### **CMT EN ALEMANIA:**

El único estudio alemán disponible hasta el momento realiza una descripción de los diagnósticos moleculares registrados en el periodo de 2004 a 2012. En total se detectaron 776 casos de CMT, de los cuales 589 disponían de un estudio neurofisiológico completo (60% CMT1, 26% CMT2, 14% NHPP). El estudio molecular resultó positivo en un 66% de CMT1 (233/355 casos) y en el 35% de CMT2 (53/151 casos). Al igual que en otras series publicadas, en el grupo de pacientes con CMT1, el diagnóstico molecular más frecuente fue la duplicación de *PMP22* (77%), *GJB1* (13%) y *MPZ* (8%). En aquellos pacientes con CMT2 en los que se alcanzó un diagnóstico molecular, las mutaciones más frecuentes se identificaron en *GJB1* (30%) y en *MFN2* (23%). Un dato importante que aporta el estudio de Gess, es el porcentaje de casos con diagnóstico molecular en el grupo de pacientes sin un estudio neurofisiológico concluyente (30%, N=164). Los genes más frecuentes en este grupo de pacientes fueron: duplicación en *PMP22*, deleción en *PMP22*, mutaciones en *GJB1*, *MPZ*, *BSCL2* [243].

### **CMT EN FINLANDIA:**

El estudio epidemiológico publicado en 2017 por Marttila, incluye pacientes con diagnóstico de CMT en la provincia de Ostrobotnia evaluados entre 1997 y 2009. En este estudio se incluyen pacientes mayores de 16 años con el diagnóstico de CMT y/o NHPP.

La prevalencia de CMT fue de 34,6 casos/100.000 habitantes. Se identificaron un total de 107 casos (78 familias) con un probable CMT. El estudio neurofisiológico reveló 19 casos de CMT1, 66 pacientes con CMT2 y 14 pacientes con un CMTI. El estudio genético se realizó en 89 casos, alcanzando un diagnóstico molecular en el 55%. En este estudio destaca la frecuencia genética encontrada, siendo las mutaciones en *GDAP1* las más frecuentes (28 casos, 31,5%) seguidas en segundo lugar por la duplicación en *PMP22* (15 casos, 16,9%) [252].

### **CMT EN ESPAÑA:**

En España, al igual que en otros países son escasos los estudios epidemiológicos de CMT. Los dos estudios más amplios realizados en los últimos años son el estudio de Combarros (1987) y el estudio de Sivera (2013). Otros estudios realizados, se centran de forma más específica en describir la frecuencia y/o variabilidad fenotípica en determinados genes [66,219].

Combarros realizó el primer estudio epidemiológico de CMT en España. Se evaluaron 144 casos (49 casos índice) de CMT en seguimiento en el Hospital de Valdecilla (Santander). Se identificaron 78 casos de CMT1 y 66 casos de CMT2, con una prevalencia de CMT de 28,2 casos/100.000 habitantes. La prevalencia estimada de CMT1 fue de 15,3 casos/100.000 habitante y CMT2 de 12,9 casos/100.000 habitantes [240].

En 2013, Sivera publica la serie más amplia de CMT en España. Describe detalladamente el diagnóstico molecular de los pacientes con CMT evaluados en el Hospital Universitari i Politecnic La Fe de Valencia entre los años 2000 y 2012. Se evaluaron un total de 1009 pacientes con sospecha de neuropatía hereditaria, identificando 438 casos con CMT que cumplían todos los criterios de inclusión establecidos. En este estudio no se realizó un cálculo de prevalencia de la enfermedad. Se identificaron 275 casos de CMT1 (62,8%) y 163 casos de CMT2 (37,2%). El diagnóstico genético se alcanzó en un 83% de los pacientes, con un mayor éxito en el diagnóstico molecular en aquellas formas desmielinizantes (95,6%) sobre las formas axonales (62%). Las mutaciones más frecuentes fueron: duplicación *PMP22* (49%), mutaciones en *GJB1* (15%), *GDAP1* (11%), *SH3TC2* (7%) y *MPZ* (5%). Mutaciones en otros genes representan <2% de los casos (*NDRG1*, *HSPB1*, *MFN2*, *HK1*, *NEFL*, *GARS*, *PRX*, *HSPB8*, *FGD4*, *KARS*, *YARS*, *TRPV4*). No se identificaron mutaciones en *LITAF*, *MTMR2*, *GAN*, *BSCL2* ni *FIG4*. En este estudio cabe destacar, la alta frecuencia de mutaciones en el gen *GDAP1*, así como la baja incidencia de casos con mutaciones en *MFN2* (2,5%) [147].

Recientemente Lousa publica la segunda serie más amplia de CMT en España. Se trata de un estudio epidemiológico de los pacientes con CMT evaluados en el Hospital Insular-Materno infantil de la Isla de Gran Canaria desde 2007 a 2014. Se identificaron un total de 256 pacientes (79 familias) con el diagnóstico de CMT. La

prevalencia estimada fue de 30,08 casos/100.000 habitantes, similar a la prevalencia identificada por Combarros en 1987 en Santander. Se identificaron 201 casos de CMT1, 45 casos NHPP y 10 casos de CMT2. El 78,5% de los casos de CMT1 fueron CMT1A [241].

### **CMT EN IRLANDA**

Entre los años 1990 y 2013 se realizó un registro de todos los pacientes adultos con enfermedades neuromusculares evaluados en diferentes centros hospitalarios en Irlanda. Se identificaron un total de 406 casos de neuropatías hereditarias, de los cuales, 362 casos fueron CMT, con una prevalencia de 10,5 casos/100.000 habitantes. La ENMG permitió clasificar 268 casos, identificando 54% de CMT1 (N=144), 38% CMT2 (N=103) y un 8% CMTI (N=21). El diagnóstico molecular en esta serie de 362 pacientes se alcanzó únicamente en 88 casos, CMT1A (64 pacientes), CMT2A (4 casos), CMT2J (2 casos), mutaciones en *GJB1* (18 casos) [253].

### **CMT CHIPRE:**

La prevalencia de CMT en la República de Chipre a fecha de 15 de enero de 2009 fue de 16 casos/100.000 habitantes. El estudio realizado por Nicolaou identificó un total de 127 casos de CMT (33 familias y 8 casos esporádicos). Las formas desmielinizantes fueron las más frecuentes (52%) y en segundo lugar las formas axonales (33%). Al igual que en otras series, la duplicación en *PMP22* fue la

más frecuente. Se identificaron un elevado porcentaje de mutaciones puntuales en *PMP22* (9,5%) en comparación con otras series de Europa. Mutaciones en el gen *MPZ* representan un 5% de la serie, mientras que mutaciones en *MFN2* fueron relativamente frecuentes con un 9,5% de los casos, siendo CMT2A la forma más prevalente de CMT2 [254].

### **CMT HUNGRÍA:**

En 2017 se publicó el primer estudio epidemiológico sobre CMT en Hungría. Se evaluaron un total de 531 pacientes diagnosticados de CMT, de los cuales 409 eran CMT1 y 122 CMT2. El estudio molecular resultó diagnóstico en 318 casos (60%), siendo *PMP22* el gen responsable del 40% de CMT. Otros genes identificados fueron *GJB1* (10%), *MPZ* (4,5%), *MFN2* (2%), *NDRG1* (1,5%), *EGR2* (0,8%) y *CTDPI* (0,8%) [255].

### **CMT EN USA**

Por último, destacamos dos estudios no Europeos en los que se realiza un análisis detallado sobre la frecuencia genética de CMT y que debemos mencionar. El estudio realizado por el Consorcio de Neuropatías Hereditarias y el estudio de Saporta.

El Consorcio de Neuropatías Hereditarias formado por 14 centros de USA y 3 centros de Reino Unido, Italia y Australia publicó en 2015 una amplia serie de pacientes con CMT evaluados

entre 2009 y 2013. Un total de 1652 pacientes fueron valorados, de los cuales 1427 eran pacientes con CMT (CMT1 910 casos, CMT2 237 casos, CMT4 37 casos, CMTX1 107 casos, otras neuropatías hereditarias 136 casos). Al igual que en otras series, el diagnóstico molecular más frecuente fue CMT1A, seguido de CMTX1, CMT1B y CMT2A. En el presente estudio, el diagnóstico molecular se alcanzó en un elevado porcentaje de pacientes (60%) acorde a otras series publicadas tanto en EEUU como en el Norte de Europa. El éxito del diagnóstico molecular también difiere entre CMT1 (91%) frente a CMT2 (42%) [68].

El segundo de los estudios no Europeos, es el análisis de CMT realizado por Saporta y colaboradores en USA, desde 1997 hasta 2009. Aunque en este caso no se calculó la prevalencia de CMT, sí se realiza una detallada descripción de las diversas formas de CMT. Identificaron un total de 787 casos, de los cuales el 67% alcanzó un diagnóstico molecular específico. Las formas más frecuentes fueron CMT1A, CMTX1, NHPP, CMT1B y CMT2A. Además, se identificaron otros genotipos con mucha menor frecuencia (<1%). El diagnóstico molecular se alcanzó en el 98% de las formas desmielinizantes y en un 34% de los casos de CMT2 [153].

TABLA 5. PREVALENCIA DE CMT EN EUROPA

Autor / País	Periodo de estudio	Prevalencia CMT
MacMillan - Reino Unido	1989-1991	18,1/100.000
Holmberg - Suecia	1988-1991	20,1/100.000
Morocutti - Italia	1998-2000	17,5/100.000
Braathen - Noruega	1990-2005	82,3/100.000
Foley - Reino Unido	1995-2010	11,8/100.000
Guess - Alemania	2004-2012	-
Marttila - Finlandia	2009	34,6/100.000
Lefter - Irlanda	1990-2013	10,5/100.000
Vaeth - Noruega	1977-2012	22,5/100.000
Lousa /-Gran Canaria	2007-2014	30,8/100.000

En esta tabla se enumeran los principales estudios epidemiológicos de CMT realizados en Europa durante los últimos 25 años.

TABLA 6. EPIDEMIOLOGÍA DE CMT

	SAPORTA (2011) (N=787)	MURPHY (2012) (N=425)	SIVERA (2013) (N=438)	GESS (2013) (N=589)	MANGANELLI (2014) (N=197)	FRIDMAN (2015) (N=1427)
CMT1	434	240	275	355	93	910
CMT2	96	115	163	151	26	237
CMTI	-	65	-	-	-	-

Esta tabla muestra la frecuencia de los diferentes tipos de CMT identificados en los principales estudios epidemiológicos de CMT, realizados en Europa durante los últimos 25 años.

TABLA 7. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE CMT

	SAPORTA (N=787)	MURPHY (N=425)	SIVERA (N=438)	GESS (N=589)	MANGANELLI (N=197)	FRIDMAN (N=1427)
GENOTIPO	527/787	266/425	365/438	339/589	148/197	997/1427
<i>PMP22</i>	290	168	184	180	75	614
<i>GJB1</i>	80	46	56	47	14	107
<i>MPZ</i>	45	13	19	19	7	67
<i>MFN2</i>	21	12	6	12	2	70
<i>GDAP1</i>	5	2	42	-	8	9



## 3.7 DIAGNÓSTICO DE CMT

### 3.7.1 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

El diagnóstico de CMT debe comenzar con un estudio detallado del fenotipo clínico del paciente con especial énfasis en los antecedentes personales y familiares. Los hallazgos que nos pueden orientar a una etiología genética son la presencia de pie cavo, dedos en martillo, patas de cigüeña, empleo de ortesis en la infancia o cirugías previas en el pie. Los antecedentes familiares nos ayudan a confirmar nuestra hipótesis de que se trata de una entidad de base genética y además mediante la realización de un árbol genealógico que incluya el mayor número posible de generaciones nos orienta hacia el patrón de herencia. Debemos tener en cuenta, que la ausencia de otros familiares afectados no excluye un diagnóstico de neuropatía de base genética. Una vez que hemos realizado una detallada anamnesis y exploración clínica se procederá con la realización de determinadas pruebas complementarias. Entre las principales pruebas que debemos realizar se encuentra el estudio neurofisiológico (ENG y EMG), lo más detallado posible. Este estudio ENMG nos confirmará si se trata de un proceso motor, sensitivo o sensitivomotor, además de orientarnos en el proceso fisiopatológico subyacente (axonal o desmielinizante). Tras realizar el diagnóstico diferencial en caso de precisarlo, se procede con el diagnóstico molecular. Otras pruebas complementarias que pueden ser de ayuda en determinados casos son la RM de cerebro y músculo, radiografía de columna, estudio de potenciales auditivos,

valoración otorrinolaringológica, exploración oftalmológica, estudio urológico y cada vez menos frecuente, estudio histológico.

### **3.7.2 DIAGNÓSTICO MOLECULAR**

El número de genes responsables de CMT ha aumentado de forma rápida en las últimas décadas, identificándose más de 80 genes causantes de la enfermedad [12,20]. Este aumento en la identificación de nuevos genes se puede atribuir al desarrollo tecnológico ocurrido en los últimos 20 años tras el Proyecto Genoma Humano, con el desarrollo de la tecnología de secuenciación masiva (NGS) que permite la secuenciación de todo el exoma o del genoma en un breve periodo de tiempo y con un menor coste económico.

Durante muchos años, la genética médica se basaba en el paradigma de “un gen, una enfermedad”. Sin embargo, con el paso de los años se ha observado que cada vez las enfermedades de base genética son más complejas y un mismo gen puede dar lugar a diferentes fenotipos o un mismo fenotipo puede estar provocado por varios genes. Por este motivo, era imprescindible un avance en las técnicas de diagnóstico molecular que permitiese un diagnóstico rápido y con un bajo coste económico. La primera técnica que permitió la secuenciación de ADN, mediante la ADN polimerasa, fue el método desarrollado por el Dr. Frederick Sanger en 1970. La secuenciación convencional o secuenciación Sanger fue la principal técnica empleada hasta hace pocos años para realizar estudios

moleculares y se considera la técnica “*gold standard*” para la confirmación de variantes. Debido a su elevado coste económico y complejidad técnica, en los últimos 15 años comenzaron a desarrollarse tecnologías post-Sanger, conocidas como técnicas de secuenciación masiva (*Next Generation Sequencing, NGS*) o de alto rendimiento. El término NGS se emplea para describir las diferentes tecnologías que permiten la secuenciación simultánea de grandes cantidades de ADN. Entre estas técnicas se encuentran: el estudio del genoma completo (*whole-genome sequencing, WGS*), estudio del exoma completo (*whole-exome sequencing, WES*) o el estudio de un panel de genes candidatos [20].

Como hemos mencionado previamente, a lo largo de los años, se ha comprobado que CMT es una enfermedad clínica y genéticamente heterogénea. Desde la identificación del primer locus ligado a CMT por Bird en 1982, el avance en el diagnóstico molecular ha sufrido una gran transformación. En 1991 se conoció que la duplicación en el brazo corto del cromosoma 17, era la causa más frecuente de CMT (CMT1A). En 1993 se habían identificado mutaciones en los genes *GJB1*, *PMP22* y *MPZ*. La descripción de los locus y genes relacionados con CMT se realizó inicialmente mediante estudios de ligamiento o secuenciación convencional. Primero se estudiaba el gen más prevalente en la enfermedad y posteriormente en caso de resultar negativo se realizaba un análisis gen a gen de aquellos genes candidatos, hasta detectar la mutación causante. Tras la publicación

del Proyecto Genoma Humano en 2003, el descubrimiento de nuevos genes aumentó de forma considerable, identificando 22 nuevos genes causantes de CMT; además de permitir el descubrimiento de nuevos genes que no eran los principales candidatos para CMT. Entre 2005 y 2009 únicamente se encontraron nueve genes asociados a CMT. En los últimos años, tras la implantación de NGS (panel de genes, WES, WGS) con un menor coste, la genética de CMT ha cambiado drásticamente [20,242].

Las técnicas de secuenciación masiva (NGS) inicialmente se empleaban fundamentalmente en laboratorios de investigación. Sin embargo, con el paso del tiempo, debido al alto rendimiento coste-efectividad cada vez se emplean más en la práctica clínica habitual como primera opción para el diagnóstico molecular. La única excepción, es en aquellos pacientes con CMT1 de herencia AD, en los cuales el primer estudio a realizar es un *MLPA* que permita confirmar o descartar una duplicación en el cromosoma 17p, responsable de CMT1A. Las principales ventajas e inconvenientes de cada una de las técnicas de NGS se describen a continuación:

### **1) PANEL DE GENES:**

El objetivo de esta técnica es la secuenciación simultáneamente de aquellos genes de interés para una determinada enfermedad. Las principales ventajas de esta técnica son la rapidez, menor coste económico y una elevada profundidad de lectura. Por el contrario, los

paneles de genes requieren una actualización continua. En un panel de genes únicamente podemos incluir aquellos genes en los que sí se ha establecido que son patogénicos en la enfermedad. Además, requieren un estudio de reproducibilidad, sensibilidad, especificidad y capacidad de detección previa a su aplicación.

Habitualmente, en el proceso de creación de un panel de genes para CMT, podemos realizar un panel amplio para toda la enfermedad de CMT o bien realizar un panel específico. Si decidimos emplear un panel amplio que cubra todos los genes de CMT y enfermedades relacionadas tenemos el desafío de la interpretación de los resultados, porque será muy frecuente identificar variantes de significado desconocido. Por otro lado, si realizamos un panel específico para CMT desmielinizante, CMT axonal o CMT intermedio estamos delimitando más el estudio y será más factible identificar una mutación patogénica. Los paneles específicos tienen las principales ventajas de permitir minimizar el riesgo de identificar variantes de significado desconocido, resultará más económico y no será preciso actualizarlo de forma tan frecuente como un panel más amplio [256].

## **2) SECUENCIACIÓN DEL EXOMA COMPLETO (WES)**

A pesar de que el exoma supone únicamente el 2% del genoma humano, el 85% de las variantes causantes de enfermedad se encuentran en esta región. La secuenciación del exoma permite estudiar los exones codificantes de todos los genes conocidos. La

principal ventaja de esta técnica es la rapidez con la que se puede estudiar una enfermedad determinada, además de permitir la identificación de nuevos genes. Uno de los inconvenientes es que no nos proporciona información de las regiones no codificantes o de aquellas regiones pobremente enriquecidas. El análisis posterior de los datos puede delimitarse únicamente a aquellos genes de interés y en caso necesario ampliarse posteriormente si fuese necesario. De esta forma, se reduce el riesgo de detectar hallazgos de significado desconocido.

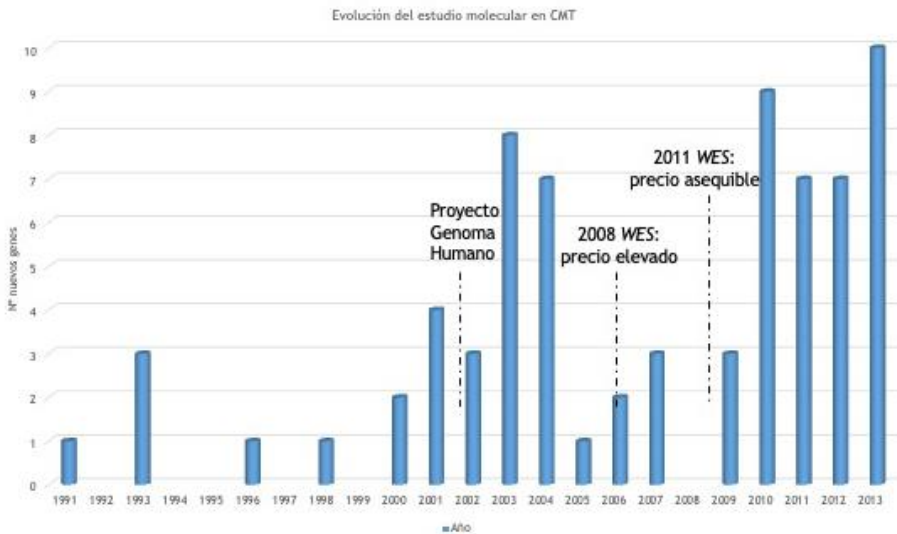
### **3) SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (WGS)**

La secuenciación del genoma tal como el propio nombre indica, permite realizar una cobertura continua e identificar variantes a lo largo de todo el genoma. La interpretación de los resultados, también podría estar dirigida inicialmente a las regiones de interés. Los principales inconvenientes de esta técnica son la manipulación de datos y la interpretación compleja de los mismos, además de la posibilidad de hallazgos de significado desconocido.

Para concluir, el diagnóstico molecular de CMT debería comenzar tras establecer el fenotipo clínico, patrón de herencia y hallazgos del estudio electrofisiológico. El análisis mediante *MLPA* para la identificación de la duplicación o delección en el gen *PMP22* debería de ser el primer estudio en realizarse, debido a la elevada prevalencia

de CMT1A en las diversas series estudiadas de CMT. A continuación, se realizaría un panel de genes específico y en caso de resultar negativo, proceder con técnicas como *WES* delimitando el estudio a genes de interés para CMT [153,256,257].

FIGURA 7. EVOLUCIÓN MOLECULAR DE CMT



En esta gráfica podemos observar el incremento en el número de genes responsables de CMT y la evolución de las técnicas de nueva secuenciación. Las técnicas de NGS comenzaron con un coste económico muy alto por lo que se utilizaban únicamente en laboratorios de investigación. Tras la implementación de NGS, el incremento en el número de genes fue exponencial, manteniéndose este crecimiento hasta el momento actual. Esta figura fue elaborada con datos obtenidos de Rossor et al. Nat. Rev. Neurol; 2013.







# **OBJETIVOS**



## 1 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, aunque se trata de una enfermedad rara, es la neuropatía hereditaria más frecuente, con una prevalencia de 28 casos/100.000 habitantes. Los estudios epidemiológicos de CMT muestran una prevalencia similar, excepto en determinadas áreas o regiones con elevada consanguinidad. A pesar de esto, todavía son escasos los trabajos publicados en los que se realice un detallado estudio de la enfermedad.

En los últimos años ocurrió un importante avance en el diagnóstico molecular de las enfermedades de base genética, entre ellas CMT. Se han identificado genes causantes de CMT que inicialmente no eran candidatos principales de la enfermedad, se ha observado que un mismo gen podía causar un fenotipo desmielinizante, axonal o intermedio e incluso hay genes que pueden heredarse tanto de forma AD como AR. Por todo ello es imprescindible conocer con exactitud los diferentes fenotipos de la enfermedad y su relación con el diagnóstico molecular. Con toda esta información, los pacientes con enfermedades raras como CMT con implicaciones variables en el pronóstico, podrían realizar una adecuada planificación familiar. Además, con el avance tecnológico, conociendo los mecanismos etiopatogénicos de la enfermedad, se

podrá avanzar en el desarrollo de terapias eficaces que permitan modificar el curso de la enfermedad.

En España, hasta el momento, únicamente se han publicado series de CMT en Cantabria, Comunidad Valencia y la Isla de Gran Canaria. En Galicia, no existe ningún estudio sobre la prevalencia de CMT. Por ello, consideramos de interés conocer cuál es la frecuencia de la enfermedad en nuestra comunidad, así como la descripción fenotípica y genotípica de nuestros pacientes.

## 2 OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Realizar una adecuada caracterización fenotípica, electrofisiológica y genética de los pacientes adultos con CMT en la comunidad Autónoma de Galicia.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer la epidemiología de CMT en la población adulta en Galicia.
  - Datos demográficos
    - Distribución de CMT según fenotipo electrofisiológico.
    - Edad y sexo de la población con CMT.
    - Procedencia de la muestra.

- Atención clínica en las GGI de Galicia.
  - Características clínicas
    - Edad de inicio de la enfermedad.
    - Retraso diagnóstico.
    - Síntomas de la enfermedad.
    - Signos de la enfermedad.
    - Gravedad de la enfermedad.
    - Fenotipo electrofisiológico.
    - Patrón de herencia.
  - Prevalencia de CMT en Galicia en población adulta.
- Conocer la epidemiología genética de CMT en adultos, estudiando los genes más frecuentemente relacionados con las formas desmielinizantes, axonales o intermedias en nuestro medio.
  - Descripción de los genes identificados en la población a estudio.
  - Relación del genotipo y fenotipo.
  - Descripción de variantes genéticas no descritas previamente
- Describir la relación genotipo-fenotipo en aquellos pacientes que presenten nuevas mutaciones en los genes analizados.
- Establecer en función de los resultados un protocolo de diagnóstico genético para su aplicación en nuestra población.



# **MATERIAL Y MÉTODOS**





## 1 POBLACIÓN A ESTUDIO

La población objeto de estudio fueron aquellos pacientes adultos, con diagnóstico de CMT, empadronados en la comunidad Autónoma de Galicia en el periodo de 1993 a 2018. Incluimos todos los casos diagnosticados de CMT y que realizaron un seguimiento periódico en el Servicio de Neurología de las diferentes Gerencias de Gestión Integrada de Galicia.

### 1.1 ESTRUCTURA SANITARIA

El sistema sanitario público en Galicia, tanto de atención primaria como especializada, se gestiona de forma conjunta a través de siete Gerencias de Gestión Integrada. La asistencia neurológica está centralizada en los principales hospitales de cada Gerencia. El Hospital Clínico de Santiago de Compostela dispone de una unidad de enfermedades Neuromusculares en el servicio de Neurología y en el mismo hospital está ubicada la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica (FPGMX).

El diagnóstico y seguimiento clínico de los pacientes con CMT se realiza en el servicio de Neurología de cada Gerencia de Gestión Integrada. Aquellos casos que lo requieren o así lo solicitan pueden ser derivados para valoración en la unidad de enfermedades

Neuromusculares del Hospital Clínico. Debemos tener en cuenta, que al tratarse de una enfermedad crónica, de curso lentamente progresivo y sin un tratamiento farmacológico disponible hasta la fecha, en diversas ocasiones el paciente abandona el seguimiento hospitalario.

## **1.2 RECLUTAMIENTO DE LOS PACIENTES**

Este trabajo surge como iniciativa de la Unidad de enfermedades Neuromusculares del servicio de Neurología del Hospital Clínico de Santiago de Compostela, desde donde se realizó el reclutamiento de los casos, en colaboración con el grupo de Neurogenética de la FPGMX. El reclutamiento de los pacientes con CMT se realizó a través de diferentes vías:

- Pacientes en seguimiento en el servicio de Neurología del Hospital Clínico de Santiago de Compostela.
- Pacientes con CMT remitidos por diferentes neurólogos con actividad en el sistema sanitario público de Galicia.
- Invitación a participar en este estudio a través de la asociación de enfermedades Neuromusculares (ASEM Galicia).

## **1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

### **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Pacientes mayores de 18 años con sospecha clínica y/o neurofisiológica de una neuropatía sensitivomotora de perfil

hereditario, tipo CMT, en los que se han excluido otras causas de neuropatía.

- Familiares de pacientes con CMT, con características clínicas similares y estudio neurofisiológico patológico.
- Pacientes con CMT que realizan seguimiento en las diferentes Áreas Sanitarias de Galicia (Santiago de Compostela-Banrbanza, A Coruña-Cee, Ferrol, Lugo-A Mariña-Monforte de Lemos, Ourense-Verín-O Barco de Valdeorras, Pontevedra-Salnés y Vigo) en el periodo mencionado.

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Diagnóstico de neuropatía hereditaria exclusivamente sensitiva y autonómica.
- Diagnóstico de neuropatía hereditaria motora distal.
- Diagnóstico de neuropatía hereditaria con predisposición a las parálisis por presión.
- Pacientes con síndromes complejos, donde la neuropatía no es la característica clínica principal.
- Pacientes con sospecha clínica de neuropatía hereditaria y estudio neurofisiológico normal.
- Ausencia de un conjunto mínimo de datos relativos a la enfermedad a estudio.
- Ausencia de consentimiento informado para revisión de la historia clínica o realización del estudio genético.

## 2 VARIABLES ANALIZADAS

En todos los pacientes se realizó una historia clínica y exploración física detalladas. Se registraron antecedentes personales y antecedentes familiares relevantes para la enfermedad a estudio, lo cual permitió elaborar un árbol genealógico para cada una de las familias estudiadas. El estudio neurofisiológico y los hallazgos del diagnóstico molecular, de cada uno de los casos, fueron revisados por un neurólogo experto en enfermedades Neuromusculares.

### HISTORIA CLÍNICA

En la historia clínica se realizó una detallada anamnesis sobre los síntomas del paciente y evolución clínica de su enfermedad (Anexo III). Se registraron antecedentes personales y familiares con la realización de un árbol genealógico en cada una de las familias. Se describió la exploración física y en aquellos casos evaluados en el Hospital Clínico de Santiago de Compostela incluimos:

- Función motora utilizando la escala estandarizada del Medical Research Council (MRC).
- Sensibilidad (táctil, algésica, térmica, vibratoria y artrocinética).
- Reflejos musculares en las cuatro extremidades.
- Deformidades esqueléticas: atrofas musculares, pie cavo, dedos en martillo, retracción aquílea, patas de cigüeña, mano en garra, escoliosis, etc.

- En aquellos casos en los que fue posible se evaluó la escala global de neuropatías hereditarias “*CMT neuropathy score*” (CMTNS) o en su defecto CMTES. Además, se realizó una escala funcional (FDS).
- En aquellos casos, donde la historia clínica así lo permitió también se intentó extrapolar los datos registrados con fines asistenciales a dichas escalas (CMTNS y FDS). Cuando la información no permitía realizar una adecuada valoración de dichas escalas, se clasificó la gravedad de la enfermedad en:
  - Leve: deambulación sin ayuda.
  - Moderada: si existe la necesidad de ortesis para la deambulación y/o flexión dorsal de los pies <3.
  - Grave: cuando se requiere ayuda de bastón o silla de ruedas para desplazarse.

TABLA 8. ESCALAS DE GRAVEDAD CLINICA

	CMTNS	CMTES	GRAVEDAD CLINICA
Leve	0 - 10	0 - 7	Deambula sin ayuda
Moderada	11 - 20	8 - 16	Ortesis y/o debilidad flexión dorsal pies <3
Grave	21 - 36	17 - 28	Bastón o silla ruedas

Los casos fueron clasificados en CMT desmielinizantes, axonales o intermedios y en aquellos con estudio neurofisiológico poco informativo se acuñó el término de “no concluyente”. Según el patrón

de herencia se clasificaron en CMT de herencia autosómica dominante, autosómica recesiva, ligada a X o casos esporádicos.

## **ESTUDIO NEUROFISIOLÓGICO**

En el estudio neurofisiológico se evaluaron tanto las velocidades de conducción nerviosa motora como sensitivas, latencias distales y amplitud del CMAP y PSE. Se registraron los datos obtenidos en nervios mediano, cubital, peroneal, tibial y nervio sural. El estudio de electromiografía de aguja incluyó un registro de la actividad muscular en reposo y con esfuerzo máximo realizado a criterio del facultativo asistencial. En todos los pacientes atendidos en el Hospital Clínico de Santiago de Compostela, el estudio neurofisiológico se realiza de forma protocolizada valorando los parámetros de conducción nerviosa motora y sensitiva (antidrómica) en nervios mediano, cubital, peroneal, tibial, sural y peroneo superficial. La electromiografía de aguja valora tanto la actividad en reposo como la actividad tras esfuerzo máximo en músculo vasto externo, tibial anterior, gemelo, bíceps braquial, deltoides, extensor común de los dedos y primer interóseo dorsal.

## **OTROS ESTUDIOS**

En casos aislados, en donde el proceso diagnóstico así lo requería, se realizó biopsia de nervio sural para estudio histológico mediante microscopía óptica y electrónica.

El estudio de RM muscular no se realiza de forma rutinaria en todos los pacientes con CMT. Desde el año 2013, realizamos RM muscular en aquellos casos con una variante en un nuevo gen o una variante no descrita previamente y que podría aportar información adicional para definir el fenotipo. El estudio incluyó secuencias en T1 y STIR en plano axial y coronal. Se valoró la alteración de la señal muscular para determinar la presencia y grado de infiltración grasa y/o presencia de edema muscular. El grado de infiltración grasa se evaluó mediante una escala semicuantitativa de 0 a 4 en musculatura de ambos pies, compartimentos de la pierna y muslo.

### **ESTUDIO MOLECULAR**

El análisis molecular se ha realizado en la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica. Esta tesis se originó a partir de sendos proyectos de investigación autónomos para el estudio de CMT en población Gallega realizado durante el periodo de 2005 a 2010. El objetivo de ambos proyectos (PGIDIT05SAN14PR y 07CSA017228PR) fue el estudio genético en pacientes con CMT en Galicia y la creación de una herramienta de diagnóstico molecular en esta población. En todos los casos el análisis molecular se inició tras firmar un consentimiento informado y obtención de una muestra de ADN del caso índice. El primer análisis a realizar fue la identificación de posibles duplicaciones en el gen *PMP22* mediante la técnica de PCR con cebadores marcados con fluorescencia y posteriormente se analizaban e interpretaban dichos resultados. En aquellos casos en los

que se descartó un CMT1A se procedía con el análisis gen a gen de los genes identificados hasta el momento y que fuesen compatibles con el cuadro clínico y neurofisiológico presente en el paciente. Cada gen se estudió mediante análisis de mutaciones por secuenciación, tras PCR, de los exones codificantes y zonas flanqueantes del gen. A partir del año 2005, el análisis molecular de aquellos casos que resultaron negativos para el estudio genético realizado hasta el momento y en todos los nuevos casos que llegaban a la FPGMX se realizó el estudio de forma sistemática mediante la técnica de PCR y secuenciación cíclica birideccional de los exones codificantes y regiones flanqueantes de los genes *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *EGR2*, *GDAP1*, *LITAF*, *NEFL* y *MFN2*. En el año 2007, tras la aprobación del segundo proyecto de investigación, siguiendo los mismos criterios mencionados anteriormente, se amplió el estudio molecular con la inclusión de nuevos genes; de forma que el estudio molecular de CMT desde 2007 a 2010 incluyó el análisis de los genes *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *EGR2*, *LITAF*, *NEFL*, *GDAP1*, *MFN2*, *PRX*, *RAB7*, *HSPB1* y *HSPB8*. A partir de este momento y hasta la actualidad, todos los casos que llegaron a la FPGMX se realizó el estudio de diagnóstico molecular por vía asistencial. Las técnicas de secuenciación de nueva generación (*NGS*) para el estudio de CMT se implementaron en el año 2014. Mediante enriquecimiento por hibridación de sondas SureSelect (Agilent) y secuenciación *NGS* de los exones codificantes y regiones flanqueantes hasta 10 pares de bases, se estudió un amplio panel de genes causantes de CMT. En los años posteriores se fueron



incluyendo diferentes genes identificados; de forma que en el año 2018 el estudio molecular de CMT incluyó los siguientes genes: *AARS*, *AIFM1*, *BSCL2*, *DHTKD1*, *DNM2*, *EGR2*, *FBLN5*, *FGD4*, *FIG4*, *GARS*, *GDAP1*, *GJB1*, *GNB4*, *HSPB1*, *HSPB8*, *INF2*, *KARS*, *KIF1B*, *LITAF*, *LMNA*, *LRSAM1*, *MED25*, *MFN2*, *MPZ*, *MTMR2*, *NEFL*, *NDRG1*, *PLEKHG5*, *PMP22*, *PRX*, *RAB7A*, *SBF2*, *SH3TC2*, *TFG*, *TRIM2*, *TRPV4*, *TUBB3* y *YARS*. El estudio de mutaciones en el gen *HK1* se realizaba en casos con sospecha clínica.

En aquellos casos donde se identificó una variante patogénica o probablemente patogénica, tras la firma de un consentimiento informado y exploración clínica y neurofisiológica se obtuvo muestra de ADN de los familiares a riesgo para estudio de segregación familiar. Tras la identificación de variantes de significado desconocido o variantes noveles, se siguieron una serie de pasos para su evaluación:

- Re-evaluar el fenotipo del paciente y valorar concordancia clínica-molecular.
- Valorar si se trata de una variante publicada previamente en la literatura.
- Valorar la frecuencia de dicha variante en la población sin CMT.
- Valorar los antecedentes familiares del caso índice y corroborar si dicha variante segrega en la familia.
- En algunos casos, se comprobó las consecuencias estructurales y funcionales de dicha variante en la proteína resultante.

Siguiendo los criterios del Colegio Americano de Genética Medica y Genómica (ACMG) publicados en sus guías de consenso para la interpretación de variantes genéticas, nos referiremos a todos los cambios genéticos identificados como “variantes” seguido del efecto modificador que se considere en cada caso. Así, las variantes identificadas se clasificaron en: variantes probablemente benignas (VPB), variantes benignas (VB), variantes probablemente patogénicas (VPP), variantes patogénicas (VP) y variantes de significado desconocido (VSD) [258].

### 3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 25.0. El cálculo de los intervalos de confianza al 95% se realizó con el programa Epidat 4.2.

El análisis descriptivo se presentó con parámetros de media o mediana, desviación estándar (DS), máximo y mínimo para las variables cuantitativas. Las variables categóricas se expresaron en número absoluto y porcentaje.

Se realizó un análisis de normalidad de las distintas variables mediante el test de Kolmogorov Smirnov con la corrección de Lilliefors.

La comparación de variables se realizó con el test de  $\chi^2$  para variables categóricas, el test T-student o ANOVA para las variables cuantitativas con distribución normal y con el test U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis para variables cuantitativas con distribución no normal.

Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con  $p < 0,05$ .

## 4 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Santiago de Compostela-Lugo, con código de registro 2015/720 (Anexo IV). El desarrollo del Proyecto se realizó respetando la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964 y ratificaciones de las asambleas siguientes (Tokio, Venecia, Hong Kong y Sudáfrica) sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, la Orden SCO/256/2007, del 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de Buena Práctica Clínica y el Convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina, hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997 y sucesivas actualizaciones. Los investigadores participantes en este estudio se comprometieron a que todo dato clínico recogido de los sujetos a estudio fuera separado de los datos de identificación personal de modo que se aseguró el anonimato del paciente; respetando la Ley de

Protección de Datos de Carácter Personal (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre), el RD 1720/2007 de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre (básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica), así como la Ley 3/2001, de 28 de mayo, (reguladora del consentimiento informado y de la historia clínica de los pacientes), la Ley 3/2005, de 7 de marzo, de modificación de la Ley 3/2001 y el Decreto 29/2009 de 5 de febrero, por el que se regula el acceso a la historia clínica electrónica. Los datos clínicos de los pacientes fueron recogidos por el investigador en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) específico del estudio. Cada CRD está codificado, protegiendo la identidad del paciente. Sólo el equipo investigador y las autoridades sanitarias, que tienen deber de guardar la confidencialidad, tuvieron acceso a todos los datos recogidos para el estudio. Sólo se podrá transmitir a terceros información que no pueda ser identificada. Se respetaron los requisitos establecidos en la legislación española en materia de investigación, en concreto: la gestión de las muestras se ajustó a las disposiciones de la Ley 14/2007, de 03 de julio de Investigación Biomédica en el RD 1301/2006, de 10 de noviembre, que establece normas de calidad y seguridad para la donación, recolección, evaluación, procesamiento, preservación, almacenamiento y distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en seres humanos y RD 1716/2011, de 18 de noviembre, que establece los

requisitos básicos para la autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y el procesamiento de muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para la investigación biomédica. La cesión de los datos asociados a las muestras, a los investigadores solicitantes, comunitarios (países miembros de la Unión Europea) o extracomunitarios (no miembros), se efectuó con carácter general de forma anónima o disociada, es decir, solo se cedieron muestras asociadas a datos genéricos, sin que se pudiese identificar por medios razonables su identidad.

El proyecto incluye la caracterización fenotípica y genética. Los datos para la caracterización fenotípica fueron obtenidos durante la práctica clínica habitual no siendo necesario realizar más consultas de las estrictamente necesarias para el seguimiento del paciente según la práctica establecida. Los datos del análisis genético realizado en el contexto asistencial para el diagnóstico están disponibles en la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para la realización del estudio genético. En aquellos familiares que así se consideró o a petición propia, se les explicó la naturaleza de la enfermedad y dieron su consentimiento para llevar a cabo el análisis molecular.



# RESULTADOS







# 1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

## 1.1 POBLACIÓN CON CMT: EDAD, SEXO Y FENOTIPO

En el periodo de 1993 a 2018 realizaron seguimiento clínico en las diferentes áreas sanitarias de la Comunidad Autónoma de Galicia 232 casos diagnosticados de CMT, correspondientes a 142 familias.

La distribución por sexos fue similar entre hombres y mujeres. El rango de edad de la población con CMT se situó entre los 18 y los 86 años, con una mediana de 50 [40.5-63] años. La edad de las mujeres fue superior que en los hombres ( $p=0.030$ ) (Tabla 9).

TABLA 9. POBLACIÓN CON CMT EN GALICIA: EDAD, SEXO

Sexo	N	%	Edad (años)	Significación
Mujer	121	52%	53 [42-65]	p=0.030
Hombre	111	48%	46 [38-59]	

El porcentaje más alto de casos con CMT se detectó en la franja de edad comprendida entre la cuarta y la quinta década. En las mujeres, el porcentaje más elevado de casos de CMT se situó en el grupo de edad entre los 40-59 años; sin embargo, en los hombres el porcentaje fue más alto entre los 30-49 años (Tabla 10).

TABLA 10. CMT EN GALICIA POR GRUPOS DE EDAD

Edad (años)	Total N (%)	Mujer N (%)	Hombre N (%)
≤ 19	1 (0.5)	-	1(1.0)
20 - 29	14 (6.0)	7 (6.0)	7 (6.0)
30 - 39	38 (16.0)	15 (12.0)	23 (21.0)
40 - 49	53 (23.0)	24 (20.0)	29 (26.0)
50 - 59	53 (23.0)	32 (26.0)	21 (19.0)
60 - 69	28 (12.0)	18 (15.0)	10 (9.0)
≥ 70	38 (16.5)	23 (19.0)	15 (14.0)
Total	225	119	106

Durante el periodo de estudio, de los 232 casos con CMT en seguimiento clínico, identificamos 141/232 casos de CMT desmielinizante, 80/232 casos de CMT axonal, 6/232 casos compatibles con un CMT intermedio y 5/232 casos en los cuales el estudio ENMG no fue concluyente (CMT-NC) y por tanto no se pudo realizar una correcta tipificación neurofisiológica (Tabla 11).

La edad de la población con CMT axonal de 55 [45-68] años fue superior a la población con CMT desmielinizante ( $p=0.004$ ).

TABLA 11. FENOTIPOS DE CMT EN GALICIA

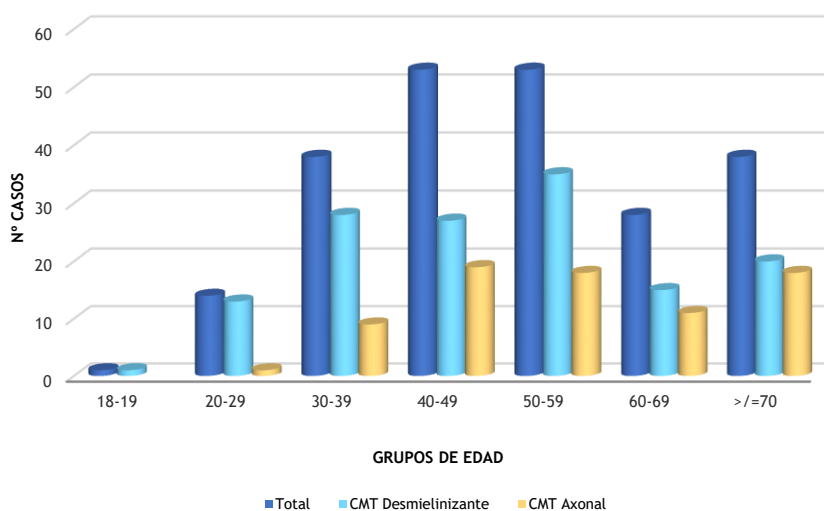
CMT	N	Edad (años)	Significación
CMT Desmielinizante	141	50 [37-60]	$p=0.004$
CMT Axonal	80	55 [45-68]	
CMT Intermedio	6	44.5 [40-47]	$p=0.015$
CMT-NC	5	53 [42.5-63.5]	

Por grupos de edad, en CMT axonal observamos un porcentaje más alto de casos (N=47/80) por encima de los 40 años (Tabla 12, Figura 8).

TABLA 12. FENOTIPOS DE CMT POR GRUPOS DE EDAD (31/12/2018)

Edad (años)	Total N (%)	CMT Desmielinizante N (%)	CMT Axonal N (%)	CMT Intermedio N (%)
≤ 19	1 (0.5)	1 (0.7)	-	-
20 - 29	14 (6.0)	13 (9.2)	1 (1.3)	-
30 - 39	38 (16.0)	28 (20.0)	9 (11.3)	1 (16.7)
40 - 49	53 (23.0)	27 (19.1)	19 (23.8)	5 (83.3)
50 - 59	53 (23.0)	35 (24.8)	18 (22.5)	-
60 - 69	28 (12.0)	15(10.6)	11 (13.8)	-
≥ 70	38 (16.5)	20 (14.2)	18 (22.5)	-
Total	225	139	76	6

FIGURA 8. CMT EN GALICIA: GRUPOS ETARIOS



## 1.2 AREA DE PROCEDENCIA

La práctica totalidad de la muestra de pacientes con CMT procedían de Galicia o sus ancestros más próximos eran de origen gallego. Tres casos procedían de otras comunidades y un caso de otro país (Madrid, León, Vizcaya y Colombia), encontrándose censados en la Comunidad Autónoma de Galicia en el momento del estudio. El 98% de la muestra fue de etnia caucásica y un 2% de etnia romaní.

La mayor proporción de pacientes con CMT estaba censada en la provincia de Pontevedra (44%) y A Coruña (40%). En la tabla 13 se enumeran los casos procedentes de cada provincia, así como el número de familias.

TABLA 13. PROCEDENCIA DE LA POBLACIÓN CON CMT

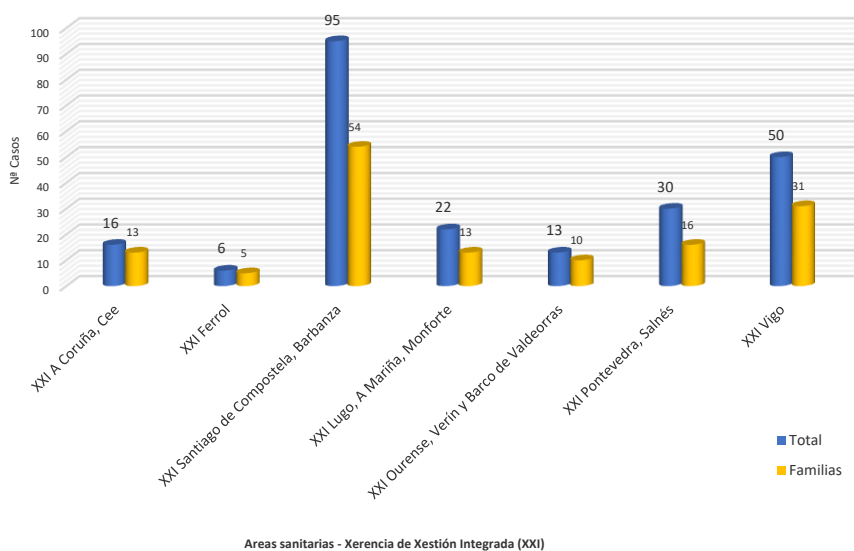
Provincia	N	Familias	CMT Desmielinizante N (familia)	CMT Axonal N (familia)
A Coruña	93	61	58 (37)	32 (21)
Lugo	21	12	8 (7)	12 (4)
Ourense	12	9	6 (4)	4 (3)
Pontevedra	102	56	67 (37)	31 (16)
Otros	4	4	2 (2)	1 (1)

## 1.3 ATENCIÓN CLÍNICA EN LAS GGI DE GALICIA

Tal como mencionamos previamente, en Galicia la asistencia sanitaria está organizada en siete Estructuras de Gestión Integrada. Si atendemos a este criterio, observamos que el Área Sanitaria de

Santiago de Compostela y Barbanza realizó el seguimiento clínico del 41% de los casos de CMT (Figura 9).

FIGURA 9. ATENCIÓN CLÍNICA EN LAS GGI DE GALICIA



## 2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

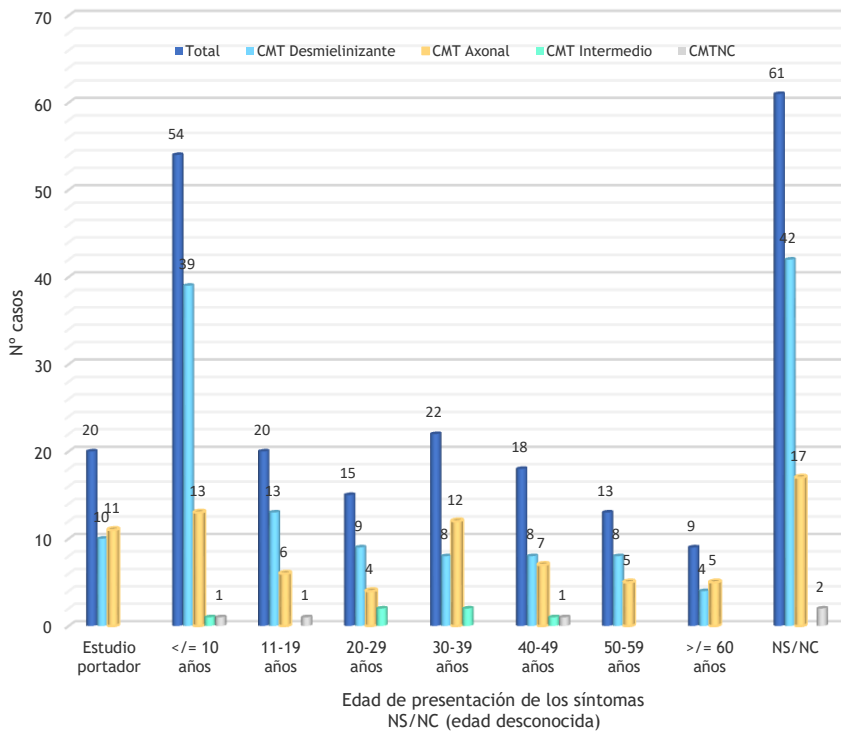
### 2.1 EDAD DE INICIO

En 151 casos se conocía la edad de los primeros síntomas de la enfermedad referida por los pacientes. El rango de edad de los primeros síntomas fue desde los primeros meses de vida hasta los 75 años con una mediana de 20 [7-40] años. No se observaron diferencias

en la edad de aparición de los primeros síntomas entre hombres (16 [6-40] años) y mujeres (25 [8-40]) años ( $p=0.395$ ).

La edad de los primeros síntomas referidos por los pacientes con CMT desmielinizante se situó en los 12 [5-38] años; sin embargo, la edad de inicio de la enfermedad en la población con CMT axonal fue más tardía (32 [10.5-46.5] años) ( $p=0.008$ ) (Figura 10).

FIGURA 10. CMT EN GALICIA: EDAD DE COMIENZO



## 2.2 TIEMPO DE EVOLUCIÓN

El tiempo de evolución de la enfermedad en la población de CMT en el momento de realizar este estudio fue de 23 [13-37] años. El tiempo de evolución de los síntomas entre CMT desmielinizante (22 [14-37.5] años) y CMT axonal (24 [12-37] años) ( $p=0.831$ ) no mostró diferencias significativas.

En 95 familias se conocía el tiempo transcurrido entre el primer síntoma referido por el probando hasta el diagnóstico. La latencia de tiempo transcurrido fue de 10 [3-24] años.

## 2.3 SÍNTOMAS Y SIGNOS DE CMT

Los principales síntomas referidos por los pacientes con CMT fueron las dificultades motrices (el 78.3% refería dificultad para caminar y el 76.8% inestabilidad o caídas frecuentes) y deformidades esqueléticas (el 86.7% presentaba pie cavo). El dolor y/o las parestesias en extremidades inferiores fueron los síntomas sensitivos predominantes. La población con CMT desmielinizante consultó más frecuentemente por pie cavo ( $p=0.000$ ) o debilidad en las manos ( $p=0.006$ ) a diferencia de los casos con CMT axonal donde los síntomas fueron más heterogéneos. En la tabla 14 se resumen los principales síntomas referidos por los pacientes con CMT.

TABLA 14. SÍNTOMAS REFERIDOS POR LOS PACIENTES CON CMT

	Global N=203 (%)	CMT Desmielinizante N=120 (%)	CMT Axonal N=73 (%)	Significación (p<0.05)
Síntomas sensitivos	138 (68.0)	77 (64.2)	52 (71.2)	0.186
Extremidades superiores	80 (39.4)	47 (39.2)	29 (39.7)	0.563
Extremidades inferiores	123 (60.6)	67 (55.8)	48 (65.7)	0.130
Dolor	64 (31.5)	29 (24.2)	26 (35.6)	0.077
Dolor y parestesias	79 (38.9)	49 (40.8)	26 (35.6)	0.270
Acorchamiento	33 (16.3)	16 (13.3)	17 (23.3)	0.059
Disautonomía	21 (10.3)	12 (10.0)	6 (8.2)	0.415
Tensión arterial	5 (2.5)	4 (3.3)	1 (1.4)	0.359
Sudoración	12 (5.9)	6 (5.0)	4 (5.5)	0.586
Gastrointestinal	2 (1.0)	1 (0.8)	1 (1.4)	0.625
Otros	4 (2.0)	3 (2.5)	1 (1.4)	0.498
Síntomas motores	181 (89.2)	110 (91.6)	61 (83.6)	0.070
Pérdida de masa muscular	147 (72.4)	88 (73.3)	49 (67%)	0.276
Pie caído	122 (60.1)	77 (64.2)	41 (56.2)	0.155
Pie cavo	176 (86.7)	113 (94.2)	53 (72.6)	<b>0.000</b>
Dedos en martillo	126 (62.1)	81 (67.5)	39 (53.4)	<b>0.071</b>
Debilidad en manos	103 (50.7)	70 (58.3)	28 (38.4)	<b>0.006</b>
Dificultad para levantarse	39 (19.2)	17 (14.2)	18 (24.7)	0.064
Dificultad para subir escaleras	66 (29.5)	30 (25.0)	24 (32.9)	0.189
Dificultad para caminar - Torpeza	159 (78.3)	95 (79.2)	55 (75.3)	0.338
Inestabilidad	156 (76.8)	94 (78.3)	53 (72.6)	0.238
Caídas	156 (76.8)	96 (80.0)	51 (69.8)	0.095
Calambres	139 (68.5)	84 (70.0)	46 (63.0)	0.215



Otros datos relevantes identificados en la serie de pacientes con CMT fueron: disfonía (N=4), síntomas de comienzo asimétrico (N=3) o síndrome de piernas inquietas (N=2). Además, el temblor postural de las manos fue un síntoma y signo frecuente, como se puede observar en la tabla correspondiente a la exploración física.

En la población con CMT desmielinizante (N=120) se identificó con mayor frecuencia amiotrofia de musculatura en extremidades superiores (p=0.025), pie cavo (p=0.000), debilidad distal en extremidades superiores (p=0.011) e hipo/arreflexia de extremidades superiores y rotuliana (p=0.001, p=0.000). En la tabla 15 se resumen los principales hallazgos de la exploración física en población con CMT.

**TABLA 15. SIGNOS IDENTIFICADOS EN CMT**

	CMT N=203 (%)	CMT Desmielinizante N=120 (%)	CMT Axonal N=73 (%)	Significación (p<0.05)
<b>Amiotrofia</b>				
EESS	97 (47.8)	64 (53.3)	27 (37.0)	<b>0.025</b>
EEII	139 (68.5)	82 (68.3)	48 (65.8)	<b>0.422</b>
Fasciculaciones	7 (3.4)	2 (1.7)	5 (6.8)	0.061
Pie cavo	176 (86.7)	113 (94.2)	53 (72.6)	<b>0.000</b>
Dedos en martillo	126 (62.1)	81 (67.5)	39 (53.4)	0.071
Mano en garra	18 (8.9)	13 (10.8)	4 (5.5)	<b>0.162</b>
Debilidad EESS	105 (51.7)	72 (60.0)	29 (39.7)	<b>0.005</b>
Proximal y distal EESS	10 (4.9)	6 (5.0)	4 (5.5)	<b>0.011</b>
Distal en EESS	95 (46.8)	66 (55)	25 (34.2)	
Debilidad EEII	174 (85.7)	106 (88.3)	58 (79.5)	0.069
Proximal y distal en EEII	35 (17.2)	14 (11.7)	18 (24.6)	<b>0.006</b>

	CMT N=203 (%)	CMT Desmielinizante N=120 (%)	CMT Axonal N=73 (%)	Significación (p<0.05)
Distal EEII	139 (68.5)	92 (76.7)	40 (54.8)	
<b>Reflejos musculares</b>				
Hipo/arreflexia EESS	134 (66.0)	88 (73.3)	37 (50.7)	0.001
Hipo/arreflexia rotuliana	182 (89.7)	117 (97.5)	55 (75.3)	0.000
Hipo/arreflexia aquilea	198 (97.5)	119 (99.2)	69 (94.5)	0.067
Piramidalismo	7 (3.4)	-	7 (9.6)	0.001
<b>Sensibilidad EESS</b>				
Táctil/Algésica	16 (7.9)	7 (5.8)	8 (11.0)	
Vibratoria	13 (6.4)	10 (8.3)	3 (4.1)	0.420
Táctil, algésica, vibratoria	27 (13.3)	16 (13.3)	9 (12.3)	
<b>Sensibilidad EEII</b>				
Táctil/Algésica	22 (10.8)	11 (9.2)	9 (12.3)	0.449
Vibratoria	35 (17.2)	20 (16.7)	14 (19.2)	0.730
Táctil, algésica, Vibratoria	76 (37.4)	48 (40)	24 (32.9)	
<b>Otros</b>				
Escoliosis	100 (49.2)	68 (56.7)	22 (30.1)	0.019
Hipoacusia	10 (4.9)	9 (7.5)	-	0.023
Disfonía	4 (2.0)	1 (0.8)	3 (4.1)	0.153
Temblor	65 (32.0)	36 (30)	23 (31.5)	0.490

## 2.4 GRAVEDAD CLÍNICA

La gravedad de la población con CMT evaluada mediante la escala CMTNS (N=120) fue moderada (11 [6-16]). En aquellos casos en los que no fue posible evaluar la CMTNS, se estimó la escala CMTES (N=60) con una media de 6 [3-11]. Además, valoramos la escala funcional (FDS) y una escala simplificada basada en la

necesidad o no de ayuda para deambular (N=203). Las formas desmielinizantes fueron casos más graves que la población con formas axonales ( $p=0.001$ ) (Tabla 16, Figura 11).

TABLA 16. GRAVEDAD CLÍNICA DE CMT

Escala	CMT	CMT Desmielinizante	CMT Axonal	Significación ( $p<0.05$ )
CMTNS	11 [6-16]	12 [8.5-18] (N=61)	7 [3-13] (N=51)	0.001
CMTES	6 [3-11]	6 [3-10] (N=40)	8 [4-11] (N=18)	0.436
FDS	2 [1-3]	2 [1-3] (N=110)	2 [1-3] (N=73)	0.724
Gravedad clínica	N=203			
Leve	76	39	32	0.418
Moderada	90	56	31	
Grave	37	23	12	

FIGURA 11. CMT EN GALICIA: GRAVEDAD

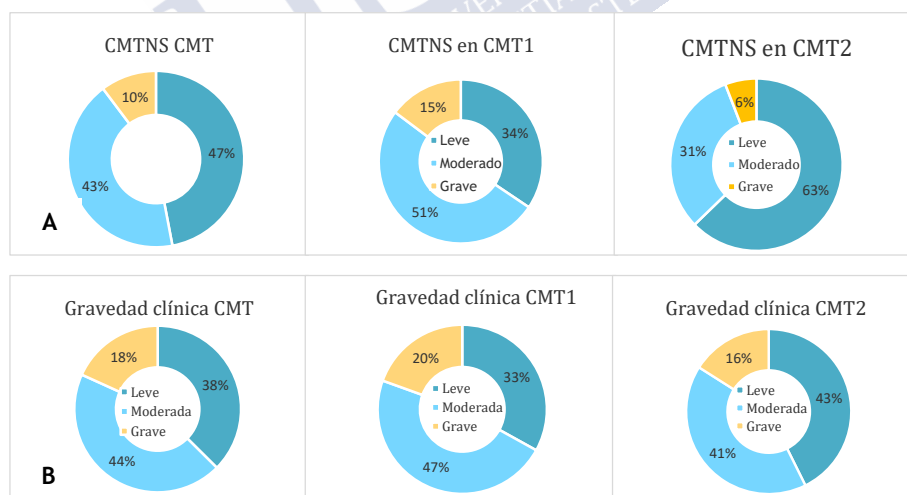


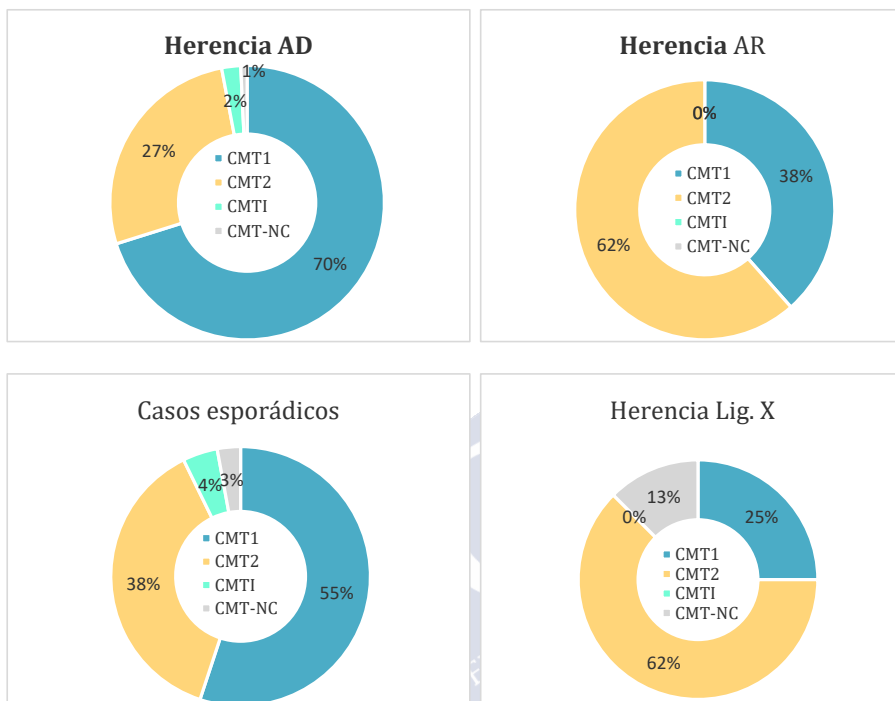
Figura A Escala CMTNS. Figura B Gravedad Clínica.

La gravedad clínica mostró una relación estadísticamente significativa y directamente proporcional con el tiempo de evolución de la enfermedad ( $r=0.361$ ,  $p=0.000$ ). La gravedad clínica mostró una relación directamente proporcional con la edad de los pacientes ( $r=0.076$ ,  $p=0.417$ ), e inversamente proporcional con la edad de inicio de la enfermedad ( $r=-0.161$ ,  $p=0.118$ ), pero sin alcanzar significación estadística.

## 2.5 PATRÓN DE HERENCIA

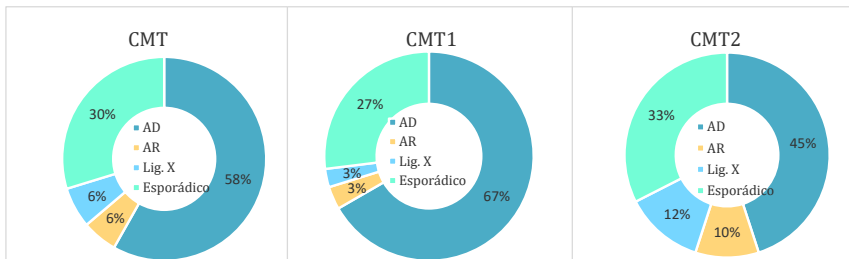
El patrón de herencia predominante fue autosómico dominante ( $N=134$ ), seguido de aquellos casos esporádicos ( $N=69$ ). La herencia recesiva ( $N=13$ ) y ligada a X ( $N=16$ ) fueron menos frecuentes. El 69.6% de las formas AD fueron CMT desmielinizante ( $N=94/134$ ) y un 27.4% CMT axonal ( $N=37/134$ ). El 61.5% de los casos de herencia AR se correspondían con formas axonales ( $N=8/13$ ) y un 38.5% CMT desmielinizante ( $N=5/13$ ). En los casos esporádicos el 55% correspondían con CMT desmielinizante ( $N=38/69$ ) y un 37.7% eran CMT axonales ( $N=26/69$ ) (Figura 12).

FIGURA 12. CMT EN GALICIA: PATRÓN DE HERENCIA



Las formas desmielinizantes mostraron un patrón de herencia predominantemente autosómico dominante (66.7%). En las formas axonales, el patrón de herencia fue heterogéneo; el 46% presentó una herencia AD y un 42.5% fueron casos de herencia AR o casos esporádicos ( $p=0.003$ ) (Figura 13).

FIGURA 13. PATRÓN DE HERENCIA SEGUN FENOTIPO CMT



## 2.6 ESTUDIO DE CONDUCCIÓN NERVIOSA

El estudio neurofisiológico junto con los datos clínicos permitió clasificar de forma adecuada al 98% de la muestra (N=227). En el 2% restante (N=5) el estudio ENMG no fue concluyente (Figura 14 y 15).

FIGURA 14. CMT EN GALICIA: PATRÓN ELECTROFISIOLÓGICO

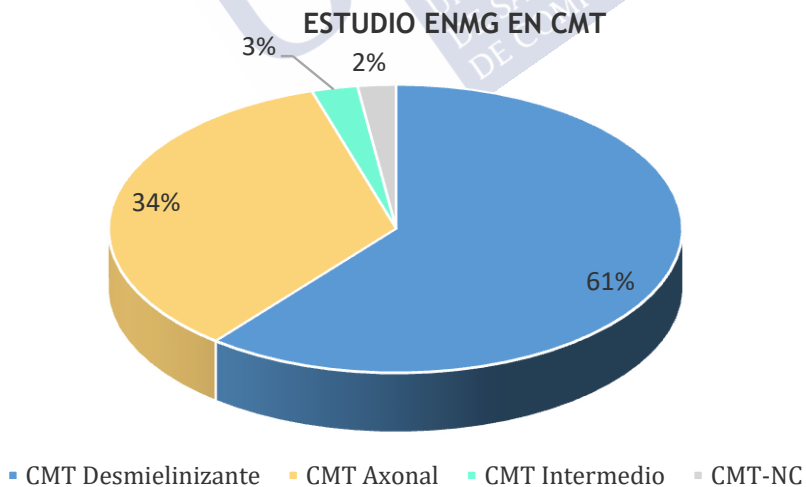
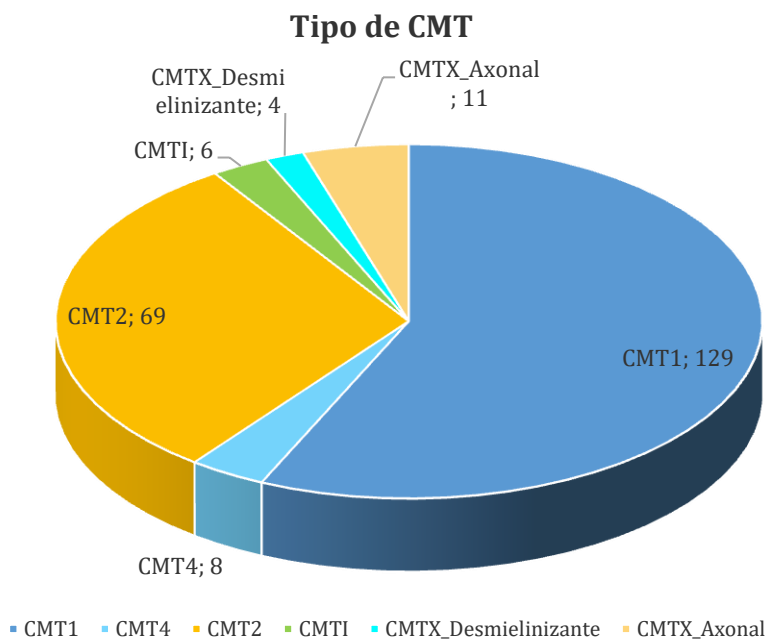


FIGURA 15. CMT EN GALICIA: FENOTIPO ELECTRODIAGNÓSTICO



En aquellos casos en los que disponíamos de los valores de la neurografía (N=147) fue posible establecer una clasificación en función de la VCNM de nervio mediano. El ENMG detallado no estaba disponible en todos los pacientes (Tabla 17, Figura 16).

**TABLA 17. VCNM SEGÚN FENOTIPO DE CMT**

	CMT1	CMT4	CMT2	CMT1	CMTX_F	CMTX_M
7	129	8	69	6	9	8
REGISTRO ENMG DISPONIBLE (VCNM m/s)						
N	75	6	54	5	4	3
VCNMM (m/s)	22 [15-25]	18 [10-24]	55 [44-54]	41 [38.5-43]	44 [35.5-50]	27 (min 22 - máx 33)
≤ 15	19	2	1**	-	-	-
16-25	39	3	-	-	-	1
26-35	15	-	1***	-	1	2
36-45	1	1	19	5	1	-
≥ 45	1*	-	33	-	2	-

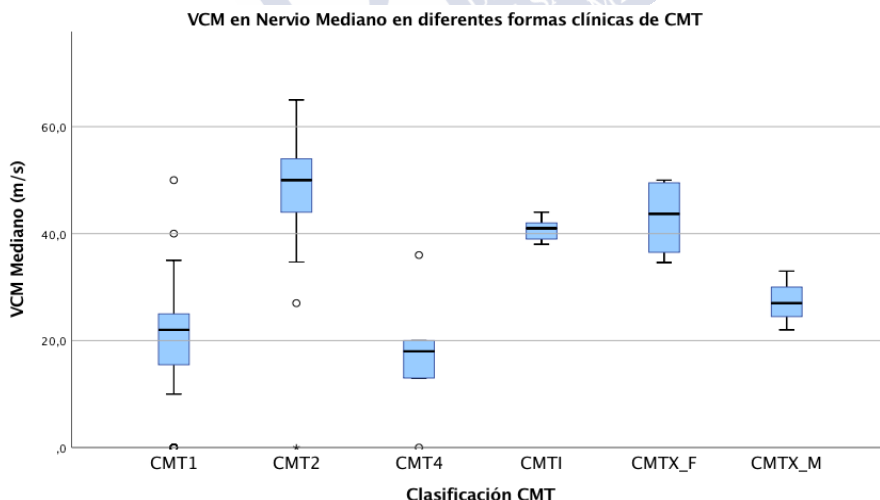
CMTX\_F: mujer, CMTX-M: hombre.

\*Caso portador de una variante patogénica en el gen *EGR2*, siendo el probando de la familia un caso desmielinizante.

\*\*CMT2 con ausencia de respuesta en el nervio mediano.

\*\*\*Paciente con VCNM de nervio mediano en rango intermedio y el resto del estudio con hallazgos de neuropatía axonal.

**FIGURA 16. CMT EN GALICIA: VCNMM**



CMT\_F: mujer; CMTX\_M: hombre



### 3 PREVALENCIA DE CMT EN GALICIA

El día 31 de diciembre de 2018 la población adulta (> 18 años) censada en Galicia fue de 2.314.532 habitantes. La prevalencia de CMT en población adulta en Galicia fue de 10 casos/100.000 habitantes (N=225), con un intervalo de confianza del 95% de 6 a 15 casos/100.000 habitantes. La prevalencia de CMT desmielinizante (N=139) en Galicia, fue el doble que para CMT axonal (N=76). En la siguiente tabla se recoge la prevalencia estimada de CMT desmielinizante y de CMT axonal (Tabla 18).

TABLA 18. PREVALENCIA DE CMT EN GALICIA A 31/12/2018

	Nº casos CMT 31/Dic/2018	Población	Prevalencia (casos/100.000 habitantes)
Total	225		10 (6 - 15)
CMT Desmielinizante	139	2.314.532	6 (3 - 10)
CMT Axonal	76		3 (1 - 7)

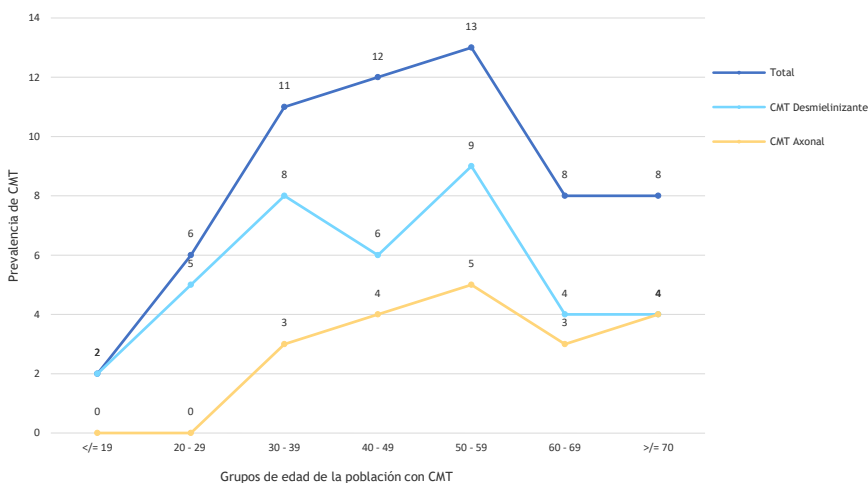
La prevalencia más elevada se observó en la franja de edad entre los 30-59 años. En la tabla 19 se muestra la prevalencia por grupos de edad.

TABLA 19. PREVALENCIA POR GRUPOS ETARIOS

Grupos de edad	Nº casos CMT 31/dic./2018	Población	Prevalencia (casos/100.000 habitantes)	IC 95%
≤ 19 años	1	41.923	2	0 - 13
20 - 29	14	236.844	6	3 - 10
30 - 39	38	352.982	11	8 - 15
40 - 49	53	438.209	12	9 - 16
50 - 59	53	396383	13	10 - 17
60 - 69	28	340483	8	5 - 11
≥ 70	38	507.708	8	6 - 11

La prevalencia de CMT por grupos de edad y formas clínicas también identificó una prevalencia más elevada de CMT desmielinizante en edades más precoces en comparación con la población con CMT axonal, en donde la mayor prevalencia se situó a partir de la franja de edad de los 50 años.

FIGURA 17. PREVALENCIA DE CMT POR GRUPOS ETARIOS



La provincia de Pontevedra con 12 casos/100.000 habitantes y A Coruña con 10 casos/100.000 habitantes recogieron la prevalencia más elevada de CMT en la Comunidad Autónoma. En la tabla 20 se muestra la prevalencia registrada de CMT en cada provincia.

TABLA 20. PREVALENCIA POR PROVINCIAS 31/12/2018

Provincia	Nº casos CMT	Población	Prevalencia (casos/100.000 habitantes)
A Coruña	94	956.456	10 (8 - 12)
Lugo	21	291.276	7 (4 - 11)
Ourense	13	272.417	4 (2 - 8)
Pontevedra	97	794.383	12 (10-15)

## 4 ESTUDIO MOLECULAR

El estudio molecular realizado en los 232 casos de CMT, identificó alguna variante en el 83.2% de los casos (N=193), correspondiente con 107 familias. En 35 familias no se identificó ninguna variante en el análisis molecular. El 80.4% de las familias presentó una variante patogénica (CMT1A 57%), VPP en el 9.3% y VSD en el 10.3%. En la siguiente tabla se muestran los genes identificados en el estudio molecular.

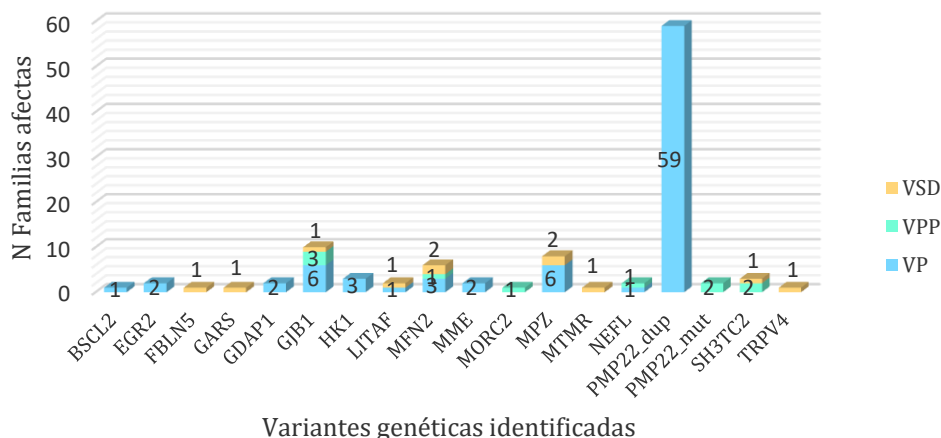
TABLA 21. ESTUDIO MOLECULAR DE CMT EN GALICIA

Genes	Familias afectadas (N)	N=232	% del total de CMT (N=232)	Casos con VP/VPP (N=173)	% casos genéticamente confirmados (VP/VPP) (N=173)
<i>PMP22 dup</i>	59	99	42.7	99	57.2
<i>GJB1</i>	10	17	7.3	16	9.2
<i>MPZ</i>	8	21	9.1	12	6.9
<i>MFN2</i>	6	12	5.2	10	5.8
<i>GDAP1</i>	2	10	4.3	10	5.8
<i>EGR2</i>	2	5	2.2	5	2.9
<i>BSC12</i>	1	5	2.2	5	2.9
<i>HK1</i>	3	5	2.2	5	2.9
<i>NEFL</i>	2	4	1.7	4	2.3
<i>SH3TC2</i>	3	3	1.3	2	1.2
<i>PMP22*</i>	2	2	0.9	2	1.2
<i>MME</i>	2	2	0.9	2	1.2
<i>LITAF</i>	2	2	0.9	1	0.6
<i>FBLN5</i>	1	2	0.9	-	-
<i>GARS</i>	1	1	0.4	-	-
<i>MORC2**</i>	1	1	0.4	**	0.6
<i>TRPV4</i>	1	1	0.4	-	-
<i>MTMR</i>	1	1	0.4	-	-
<i>NC***</i>	35	39	16.8	-	-

\**PMP22*: mutaciones puntuales; \*\**MORC2*: variante con índices de patogenicidad no concluyentes (VSD/VPP); \*\*\**NC*: no concluyente.

La siguiente gráfica muestra el número de familias con variantes genéticas identificadas y el grado de patogenicidad.

FIGURA 18. PATOGENICIDAD DE LAS VARIANTES IDENTIFICADAS

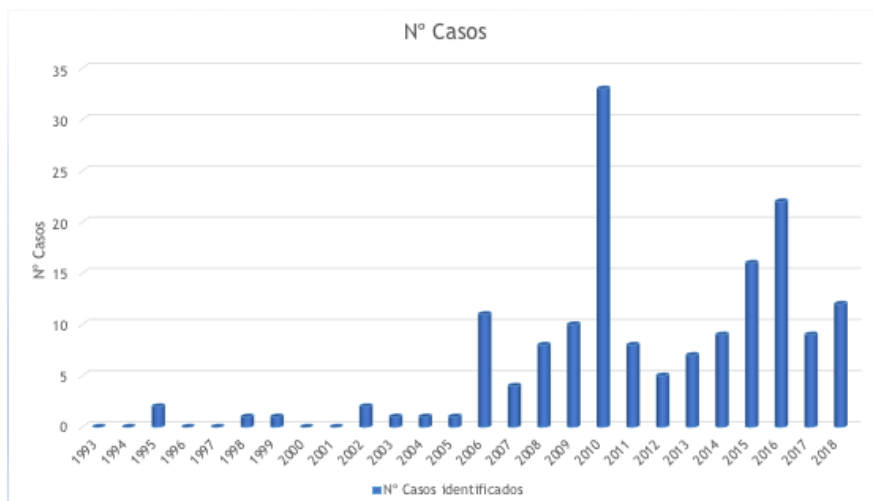


En este gráfico se representa el grado de patogenicidad de las variantes detectadas en los diferentes genes de familias con CMT.

#### 4.1 EVOLUCIÓN DEL ESTUDIO MOLECULAR

El diagnóstico molecular de CMT en Galicia presentó un incremento progresivo en el número de genes identificados desde el año 1993. Del total de casos en los que se identificó alguna variante (N=193) conocemos la fecha del diagnóstico molecular en el 84.5% de los casos (N=163). En la siguiente gráfica observamos el número de genes identificados en los últimos 25 años (Figura 19).

FIGURA 19. CMT EN GALICIA: EVOLUCIÓN DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR

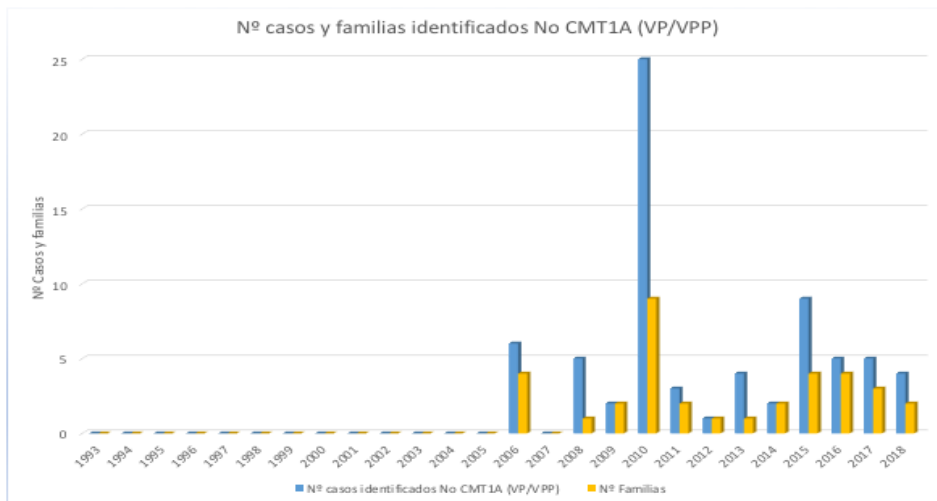


El número de casos con alguna variante en el estudio molecular hasta el año 2006 fue escaso (N=9), fundamentalmente se trataba de casos con duplicación en *PMP22*. A partir del año 2006 el rendimiento del diagnóstico molecular fue muy superior, destacando el número de casos en los que se identificó alguna variante en el estudio molecular en 2006 (N=11), en 2010 (N=33) y a partir del año 2010 (N=88).

La duplicación en el gen *PMP22* fue la causa más frecuente de CMT en la población. Otros genes identificados en el estudio molecular, con VP/VPP representan el 42.8% como se describe en la tabla 21. El análisis descriptivo del número de casos y familias con VP/VPP durante el periodo de estudio muestra un mayor número de

familias confirmadas genéticamente a partir del año 2010 (N=28) (Figura 20).

FIGURA 20. CMT EN GALICIA: EVOLUCIÓN DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE VP/VPP



A continuación, realizamos una descripción de los hallazgos del estudio molecular en función del fenotipo electrofisiológico de CMT:

#### 4.2 ESTUDIO MOLECULAR EN CMT DESMIELINIZANTE

El 60.7% de la muestra con CMT presenta una forma desmielinizante (N=141), pertenecientes a 87 familias. El 50.4% fueron mujeres. La edad de la muestra, edad de inicio y tiempo de evolución de la enfermedad se describió en el capítulo de características demográficas y clínicas.

El estudio genealógico identificó un 66.7% de casos con herencia AD (N=94), un 27% de casos esporádicos (N=38), el 3.5% AR (N=5) y un 2.8% ligado a X (N=4).

El estudio molecular resultó concluyente en 131 casos (VP/VPP), de los cuales la duplicación en el gen *PMP22* responsable de CMT1A fue la causa más frecuente de CMT1 (75.6% de los casos genéticamente confirmados) y en segundo lugar se encuentra CMT1B (9.2%). Identificamos una única variante de significado desconocido en el gen *SH3TC2* (NM\_024577.2:c.3686A>T;NP\_078853.2\_p.Asp1229Val).

TABLA 22. ESTUDIO MOLECULAR EN CMT DESMIELINIZANTE

Genes	Familias (N)	CMT Desmielinizante (N=141)	% del total de CMT1 (N=141)	Casos con VP/VPP (N=131)	% casos genéticamente confirmados (VP/VPP) (N=131)
<i>PMP22 dup</i>	59	99	70.2	99	75.6
<i>MPZ</i>	6	12	8.5	12	9.2
<i>HK1</i>	3	5	3.5	5	3.8
<i>EGR2</i>	2	5	3.5	5	3.8
<i>GJB1</i>	3	4	2.8	4	3.1
<i>NEFL</i>	1	3	2.1	3	2.3
<i>SH3TC2</i>	3	3	2.1	2	1.5
<i>LITAF</i>	1	1	0.7	1	0.8
NC	9	9	6.4	-	-

### 4.3 ESTUDIO MOLECULAR EN CMT AXONAL

El 34.5% de la muestra son pacientes con una forma de CMT axonal (N=80, el 57.5% de los casos fueron mujeres), pertenecientes a 45 familias. La edad de la muestra, edad de inicio y tiempo de

evolución se detallaron en el capítulo de características demográficas y clínicas.

El estudio genealógico identificó un 46.3% de casos con herencia AD (N=37), un 32.5% de casos esporádicos (N=26), el 11.3% ligado a X (N=9) y un 10% AR (N=8).

**TABLA 23. ESTUDIO MOLECULAR EN CMT AXONAL**

Genes	Familias afectadas (N)	CMT2 (N=80)	% del total de CMT2 (N=80)	CMT2 con VP/VPP (N=38)	% CMT2 genéticamente confirmados (VP/VPP) (N=38)
<i>MFN2</i>	6	12	15.0	10	26.3
<i>GJB1</i>	5	11	13.8	10	26.3
<i>GDAP1</i>	2	10	12.5	10	26.3
<i>MPZ</i>	2	9	11.3	-	-
<i>BSCL2</i>	1	5	6.3	5	12.8
<i>MME</i>	2	2	2.5	2	5.3
<i>FBLN5</i>	1	2	2.5	-	-
<i>NEFL</i>	1	1	1.3	1	2.6
<i>GARS</i>	1	1	1.3	-	-
<i>TRPV4</i>	1	1	1.3	-	-
<i>MTMR</i>	1	1	1.3	-	-
<i>MORC2*</i>	1	1	1.3	*	*
<i>NC</i>	21	24	30.0	-	-

NC: no concluyente.

\**MORC2*: variante con índices de patogenicidad no concluyentes (VSD/VPP).

El estudio molecular resultó concluyente en 38 casos. El 92% de las variantes patogénicas o probablemente patogénicas identificadas en CMT2 se localizaron en los genes *MFN2*, *GDAP1*, *GJB1* y *BSCL2*.

En la población con CMT2 se identificaron 18 casos (10 familias) con variantes de significado desconocido. En una de las variantes, en el gen *MORC2*, el grado de patogenicidad no fue concluyente



etiquetándose como variante de significado desconocido o probablemente patogénica. En la tabla se enumeran las principales variantes de significado incierto identificadas.

**TABLA 24. CMT AXONAL: VSD IDENTIFICADAS**

Gen	Familias afectadas	CMT2 (N)	Variantes significado desconocido
<i>FBLN5</i>	1	2	NM_006329.3:c.1246A>G; p.ILE416VAL
<i>GARS</i>	1	1	NM_002047.2:c.1009C>T;p.Arg337
<i>GJB1</i>	1	1	NM_000166.5:c.504C>T;NP_000157.1:C.168C
<i>MFN2</i>	2	2	NM_014874.3:c.1643G>A;NP_055689.1:p.Gly548Glu
<i>MPZ</i>	2	9	NM_000530:c.G448T;NP_000521:p.V150L
<i>MORC2</i>	1	1	NM_014941.3:c.268G>C;p.A90P
<i>MTMR</i>	1	1	NM_016156.5:c.1336G>A;p.G446L
<i>TRPV4</i>	1	1	NM_021625:c.1378C>T;p.R460W

#### 4.4 ESTUDIO MOLECULAR EN CMT INTERMEDIO

El 2.6% de la muestra son pacientes con una forma intermedia de CMT (N=6, el 66.7% de los casos fueron varones), pertenecientes a 5 familias. La edad de inicio de la enfermedad osciló entre los 5 y los 40 años con una mediana de 27 [16-38] años. La latencia transcurrida desde el inicio de la enfermedad fue de 8 a 38 años (14 [9.5-27] años).

En el estudio genealógico se identificaron 3 casos un patrón de herencia AD y 3 casos esporádicos.

En este caso el estudio molecular identificó sendas mutaciones puntuales en el gen *PMP22* consideradas variantes probablemente patogénicas (NM\_000304:c.392C>G;p.S131C, NM\_000304.3:c.469C>T;NP\_000295.1:p.R157W).

TABLA 25. ESTUDIO MOLECULAR EN CMT INTERMEDIO

Genes	Familias afectadas (N)	CMTI (N=6)	% del total de CMTI (N=6)	CMTI con VP/VPP (N=2)	% casos CMTI genéticamente confirmados (VP/VPP) (N=2)
<i>PMP22_mut</i>	2	2	33	2	100
NC	3	4	67	-	-

NC: no concluyente.

#### 4.5 ESTUDIO MOLECULAR EN CMT CON ENMG NO CONCLUYENTE

En 5 familias (N=5 casos, el 60% varones) no disponemos de un ENMG concluyente por lo que no pudimos realizar una clasificación neurofisiológica de estos pacientes. La edad de inicio de la neuropatía se situó entre los 5 y los 45 (media de  $21.7 \pm 20$ ) años, con una latencia de tiempo transcurrido de 19 a 37 ( $28.3 \pm 9$ ) años.

El estudio genealógico en estas 5 familias fue compatible con una herencia AD (N=1), casos esporádicos (N=2) y un patrón ligado a X (N=2).

El estudio molecular identificó dos variantes en el gen *GJB1* (VP N=1, VPP N=1) y una tercera variante en el gen *LITAF* de significado desconocido.

TABLA 26. ESTUDIO MOLECULAR CMT CON ENMG NC

Genes	Familias afectadas (N)	CMT-NC (N=5)	% del total de CMT-NC (N=5)	CMT-NC con VP/VPP (N=2)	% CMT-NC genéticamente confirmados (VP/VPP) (N=2)
<i>GJB1</i>	2	2	40	2	100
NC	2	2	40	-	-

NC: no concluyente.

#### 4.6 TIPOS DE CMT IDENTIFICADOS EN GALICIA

En las tablas 27 y 28 clasificamos los diferentes fenotipos de CMT identificados según su patrón de herencia, velocidades de conducción nerviosa y hallazgos moleculares.

**TABLA 27. FENOTIPOS DE CMT IDENTIFICADOS CON VP**

TIPO	GEN	FRECUENCIA (N)
<b>CMT DESMIELINIZANTE AUTOSÓMICO DOMINANTE / ESPORÁDICO (CMT1)</b>		
CMT1A	<i>PMP22</i>	99
CMT1B	<i>MPZ</i>	12
CMT1C	<i>LITAF</i>	1
CMT1D	<i>EGR2</i>	5
CMT1F	<i>NEFL</i>	3
<b>CMT DESMIELINIZANTE AUTOSÓMICO RECESIVO (CMT4)</b>		
CMT4C	<i>SH3TC2</i>	2
CMT4D	<i>NRG1</i>	0
CMT4G	<i>HK1</i>	5
<b>CMT2 AUTOSÓMICO DOMINANTE / AR / ESPORÁDICO</b>		
CMT2A	<i>MFN2</i>	10
CMT2D	<i>BSCL2</i>	5
CMT2E	<i>NEFL</i>	1
CMT2K	<i>GDAP1</i>	10
CMT2T	<i>MME</i>	2
<b>CMT LIGADO A X</b>		
CMTX1	<i>GJB1</i>	16
<b>CMT INTERMEDIO AD</b>		
CMTDI	<i>PMP22</i>	2

**TABLA 28. FENOTIPOS DE CMT IDENTIFICADOS CON VSD**

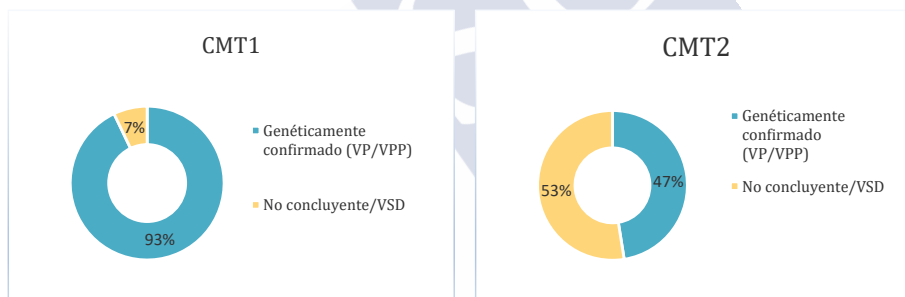
TIPO	GEN	FRECUENCIA (N)
<b>CMT DESMIELINIZANTE AUTOSÓMICO DOMINANTE / ESPORÁDICO (CMT1)</b>		
CMT1C	<i>LITAF</i>	1
<b>CMT DESMIELINIZANTE AUTOSÓMICO RECESIVO (CMT4)</b>		
CMT4C	<i>SH3TC2</i>	1
<b>CMT2 AUTOSÓMICO DOMINANTE / ESPORÁDICO</b>		
CMT2A	<i>MFN2</i>	2
CMT2C	<i>TRPV4</i>	1
CMT2D	<i>GARS</i>	1
CMT2I	<i>MPZ</i>	9
CMT2Z	<i>MORC2</i>	1
<b>CMT LIGADO A X</b>		
CMTX1	<i>GJB1</i>	1

#### 4.7 RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO

El estudio molecular detectó alguna variante en los genes anteriormente mencionados en 193 casos. En el 89.2% (N=173) de los casos, las variantes identificadas confirmaron un diagnóstico molecular de CMT, al ser consideradas patogénicas o probablemente patogénicas.

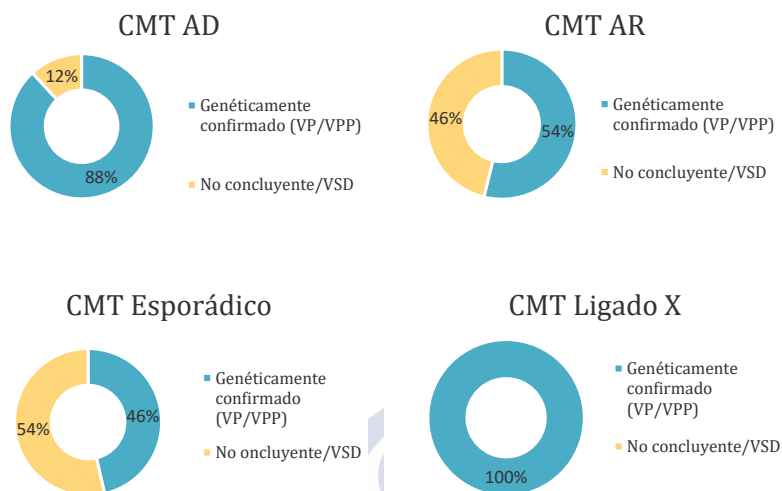
El rendimiento diagnóstico en las formas desmielinizantes fue superior (VP/VPP N=131/141) que en las formas axonales (VP/VPP N=38/80) ( $p=0.000$ ).

FIGURA 21. FENOTIPO DE CMT: RENDIMIENTO DAGNÓSTICO



Según el patrón de herencia, en las formas de herencia AD fue más probable alcanzar el diagnóstico molecular con un grado de VP o VPP (N=119/135) frente a los casos esporádicos (N=32/69), casos de herencia AR (N=7/13) o herencia ligada a X (N=4/15) ( $p=0.000$ ).

FIGURA 22. PATRÓN DE HERENCIA: RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO



La edad de inicio de la enfermedad se conocía en 151 casos. En este caso, detectamos una VP o VPP en el estudio genético en 122 casos. El rendimiento diagnóstico de las formas de inicio infantil o juvenil fue del 92.5%. No observamos diferencias significativas en el rendimiento diagnóstico en función de la edad de inicio de los síntomas.

TABLA 29. EDAD DE INICIO: RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO

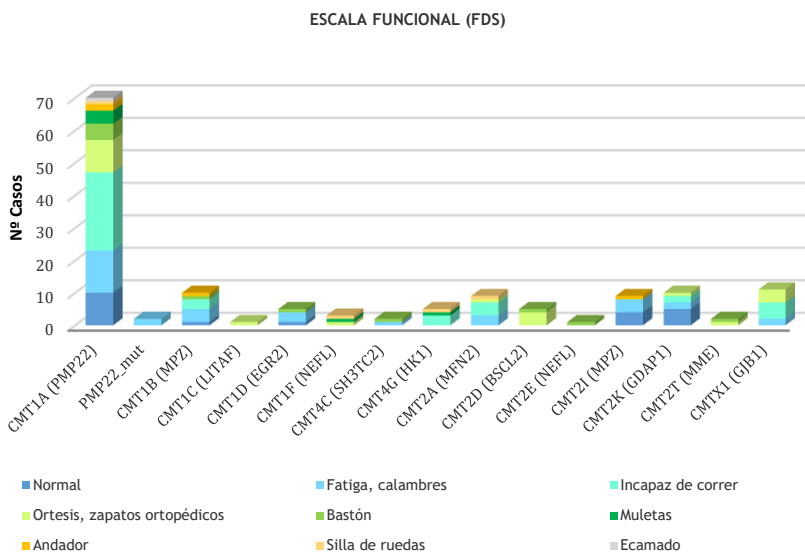
Edad inicio	Genéticamente confirmado N (%)	No concluyente N (%)	Significación (p<0.05)
Infantil/Juvenil ( $\leq 20$ años)	62 (92.5)	5 (7.5)	P=0.413
Adulto (21-45 años)	27 (87.1)	4 (12.9)	
Tardío ( $\geq 45$ años)	19 (82.6)	4 (17.4)	

## 5 RELACIÓN GENOTIPO - FENOTIPO

A continuación, realizaremos una breve descripción demográfica, clínica y ENMG de cada uno de los genes identificados en la población con CMT, deteniéndonos más detalladamente en aquellas familias consideradas clínicamente relevantes.

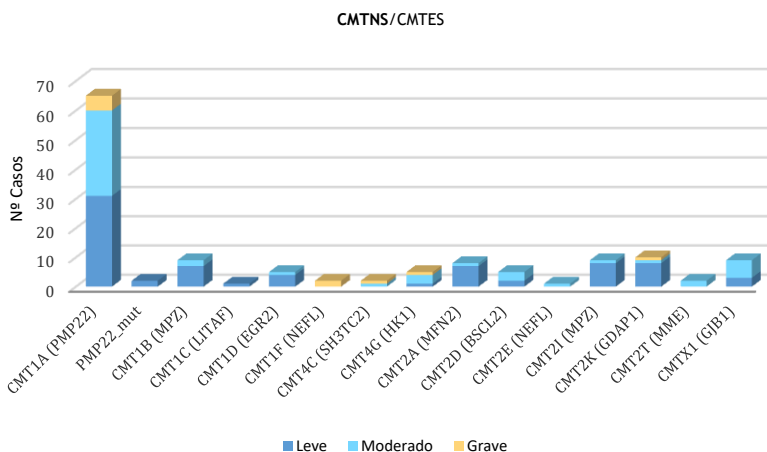
La gravedad clínica, patrón de herencia y VCNM de nervio mediano puede consultarse en las gráficas correspondientes.

FIGURA 23. FENOTIPO DE CMT Y ESCALA FUNCIONAL (FDS)



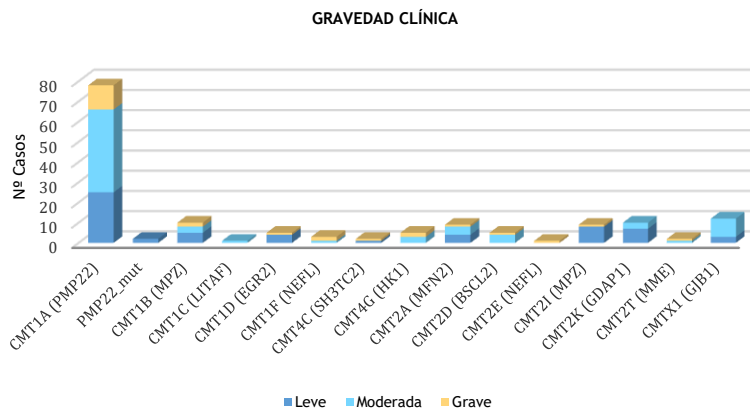
Representamos aquellos casos con VP/VPP y una familia con CMT2I con segregación clínica y genética.

FIGURA 24. FENOTIPO DE CMT Y ESCALA CMTNS/CMTES



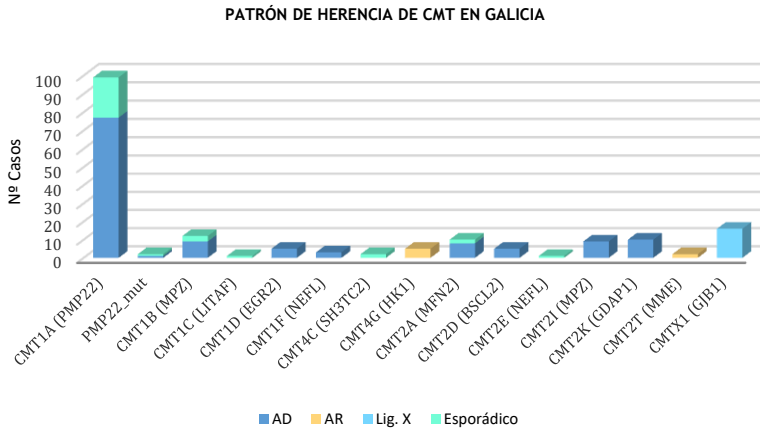
Representamos aquellos casos con VP/VPP y una familia con CMT2I con segregación clínica y genética.

FIGURA 25. FENOTIPO DE CMT Y GRAVEDAD CLÍNICA



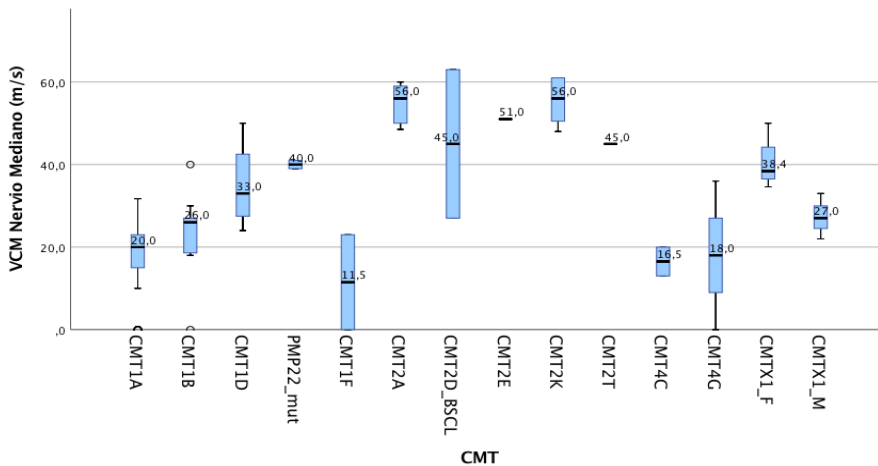
Representamos aquellos casos con VP/VPP y una familia con CMT2I con segregación clínica y genética.

FIGURA 26. FENOTIPO DE CMT Y PATRÓN DE HERENCIA



Representamos aquellos casos con VP/VPP y una familia con CMT2I con segregación clínica y genética.

FIGURA 27. FENOTIPO DE CMT Y VCNMM



En esta gráfica únicamente aparecen reflejados aquellos casos con VP/VPP.



## 5.1 CMT DESMIELINIZANTE AD (CMT1)

### 5.1.1 CMT1A: DUPLICACIÓN DEL CROMOSOMA 17 Y MUTACIONES PUNTUALES EN EL GEN *PMP22*

CMT1A representó el 57% de CMT en la población y la causa más frecuente de CMT1 (75.6%). En 65 pacientes conocíamos la edad de comienzo de los síntomas. El 41.5% recordaba el comienzo de la enfermedad durante la primera infancia (< 10 años) y un 12% antes de los 20 años. En el 78% de los casos la herencia fue AD. La gravedad clínica fue leve-moderada en la mayoría de casos. En 53 pacientes disponíamos del registro ENMG, con VCNMM  $\leq$  25 m/s (91%).

Identificamos dos casos con una mutación puntual en *PMP22*. El comienzo de la enfermedad fue en la edad adulta. La gravedad de la enfermedad fue leve en ambos casos y las VCNM de nervio mediano se situaron en rangos intermedio.

TABLA 30. CMT1A Y MUTACIONES PUNTUALES EN *PMP22*

	<i>PMP22</i> duplicación	<i>PMP22</i> mutación puntual
N (Familia)	99 (59)	2 (2)
Sexo	50% hombres	100% hombres
Edad (años)	49 [38-64]	47 (mín. 47 - máx. 48)
Edad de inicio (años)	12 [5-35]	38 (mín. 37 - máx. 40)
Edad al diagnóstico (años)	41 [27-54]	45 (mín. 44 - máx. 46)
CMTNS	12 [9-18]	7 (mín. 5 - áx. 9)
Gravedad clínica*	N=78	N=2
VCNM mediano (m/s)	20 [15-23] m/s	40 (mín. 39 - máx. 41)

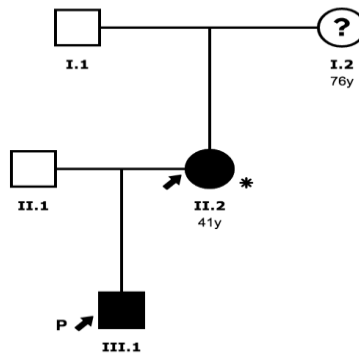
\*Ver gráfica al inicio del capítulo

## **CMT1A: FAMILIAS RELEVANTES**

Identificamos una familia (F48) con una duplicación en *PMP22* clínicamente relevante por sus hallazgos clínicos y moleculares. El probando (paciente III.1) consultó durante la infancia precoz por un retraso en la adquisición de los hitos motores y desarrollo del lenguaje. La exploración neurológica mostró rasgos dismórficos menores, estrabismo convergente y leve hipotonía con arreflexia generalizada. La marcha estaba conservada con pies en valgo por lo que era preciso el uso de ortesis. Con el diagnóstico sindrómico de un retraso global del desarrollo se solicitaron diversos estudios complementarios. En la ENG se objetivó una polineuropatía sensitivomotora desmielinizante, sin datos de denervación aguda y con un patrón de reclutamiento EMG normal. En el genoma se encontró una microduplicación en el cromosoma 17p12 que afecta a diversos genes, entre los que se encuentra *PMP22* (*COX10*, *HS3ST3B1*, *TEK3*). Los datos clínicos con el estudio molecular permitieron confirmar el diagnóstico de CMT1A asociado a un retraso global del desarrollo. El caso II.2 de 41 años consultó tras el diagnóstico familiar. En la anamnesis relató sensación de hormigueo en las manos y los pies de inicio en la juventud, además presentaba temblor postural en ambas manos. En la familia, se había diagnosticado a su hijo de CMT1A (III.1) y la madre (I.2) presentaba un trastorno de la marcha con caídas frecuentes e hipoacusia. En la exploración neurológica se observó pie cavo bilateral, escoliosis e

hipoacusia, debilidad distal en extremidades superiores, arreflexia rotuliana y aquílea bilateral. La marcha estaba conservada con dificultad para la marcha de talones. La gravedad clínica fue leve. La ENG confirmó la presencia de una polineuropatía sensitivomotora desmielizante. En el estudio genético se encontró una duplicación en el gen *PMP22* compatible con el diagnóstico de CMT1A.

FIGURA 28. CMT1A: ÁRBOL GENEALÓGICO F48



Familia portadora de una microduplicación en el cromosoma 17p12 asociada a CMT1A (F48).

TABLA 31. CMT1A: HALLAZGOS ENMG F48

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)
II.2	7	7.7	23	5.8	5.9	23	3.9	6.7	23	4.7	8.4	26
III.1	0.8	5.2	34	0.3	4.4	28	0.2	6.1	27	6.8	0.9	29

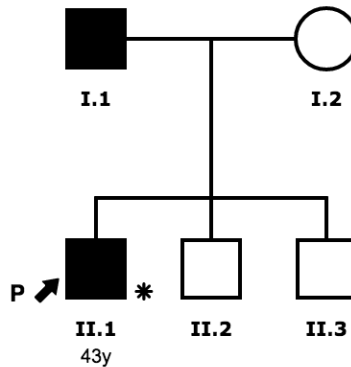
CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	Amplitud (μV)	VCNS (m/s)	Amplitud (μV)	VCNS (m/s)	Amplitud (μV)	VCNS (m/s)
II.2	6	16	5	19	9	22
III.1	11	28	12	34	10	29

## **MUTACIÓN PUNTUAL EN *PMP22*: FAMILIAS RELEVANTES**

En el estudio molecular detectamos dos mutaciones puntuales en el gen *PMP22* asociadas con una polineuropatía sensitivomotora con velocidades de conducción nerviosa en el rango intermedio. A continuación, describimos ambos casos.

El paciente (II.1) de la familia F58 consultó a los 43 años por dolor lancinante, sensación de hormigueo en ambas extremidades inferiores y fatiga muscular que comenzó a los 37 años tras una cirugía de cadera. Refería antecedentes familiares de una polineuropatía en su padre, de etiología indeterminada (I.1). En la exploración neurológica observamos una amiotrofia del grupo posterior de las piernas, pie cavo bilateral y dedos en martillo. Presentaba debilidad para la flexión dorsal y plantar de ambos pies, arreflexia rotuliana y aquilea e hipopalestesia en extremidades inferiores hasta tobillos. La ENG demostró una polineuropatía sensitivomotora con velocidades de conducción nerviosa de nervio mediano en rango intermedio. Todo ello conformaba una polineuropatía con síntomas de grado leve. El estudio molecular descartó en primer lugar una duplicación en el gen *PMP22*. Un panel de 37 genes relacionados con CMT detectó un cambio missense en heterocigosis en el gen *PMP22* (p.S131C), confirmando el diagnóstico etiológico de una polineuropatía hereditaria.

FIGURA 29. MUTACIÓN PMP22: ÁRBOL GENEALÓGICO F58

Familia portadora de la variante p.S131C en el gen *PMP22*

La segunda mutación puntual en *PMP22* se encontró en un paciente de 44 años con antecedentes personales de lumbalgias recurrentes y un episodio de paresia braquial idiopática (F59). Sin antecedentes familiares de polineuropatía. Consultó por dolor mixto, moderado a grave (EVA 8/10) en ambas extremidades inferiores. En la exploración neurológica se observó una leve escoliosis, pie cavo bilateral, retracción aquilea con arreflexia rotuliana y aquilea. Leve sensación disestésica distal en las cuatro extremidades, sin debilidad, de grado leve. La ENG mostró una polineuropatía sensitivomotora con velocidades de conducción en rango intermedio. En la EMG no se observaron datos de denervación aguda y el patrón de reclutamiento fue neurogénico en músculos distales de extremidades inferiores. El estudio etiológico descartó causas adquiridas de polineuropatía, así como la presencia de duplicaciones o deleción en el gen *PMP22*. Dada la presencia de pie cavo, completamos el estudio genético mediante un panel de genes de CMT, el cual mostró la variante p.R157W en heterocigosis.

TABLA 32. MUTACIÓN PMP22: HALLAZGOS ENMG F58, F59

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)
F58 II.1	5.1	7.1	39	6.1	5.2	36	3.5	7.5	30	NR	NR	NR
F59	8.5	3.3	40	10	3	44	3,5	4.7	31	11.5	4	29

CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	Amplitud (μV)	VCNS (m/s)	Amplitud (μV)	VCNS (m/s)	Amplitud (μV)	VCNS (m/s)
F58 II.1	5	37	4	44	NR	NR
F59	8	36	12	39	7	33

### 5.1.2 CMT1B: MUTACIONES EN EL GEN MPZ

CMT1B representó el 6.9% de CMT en la población y la segunda causa más frecuente de CMT1 (9.2%). La edad de comienzo de los primeros síntomas fue ampliamente variable con un rango de los 2-57 años. El 75% mostró una herencia AD. La gravedad clínica fue leve-moderada. Un 89% de los pacientes con CMT1B presentaba una VCNM de nervio mediano <35 m/s.

TABLA 33. CMT1B (MPZ): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

	CMT1B	CMT2I
N (Familia)	12 (6)	9 (2)
Sexo	8 mujeres, 4 hombres	6 mujeres, 3 hombres
Edad (años)	55 [50-70]	62 [52-70]
Edad de inicio (años)	39 [21-46]	47 (mín. 39 - máx. 50)
Edad al diagnóstico	44 [42-53]	58 [50-68]
CMTES	4 [2-6]	2 [0-3]
Gravedad clínica*	N=10	N=9
VCNM mediano (m/s)	26 [18-28] m/s	43 [40-44] m/s
Estudio molecular	p.G93A, p.R98H, p.Y82C, 1172fs262 en el exón 4, **Ile162Metfs*89	**p.V150L

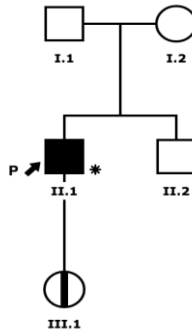
\*Ver gráfica al inicio del capítulo

\*\*Ile162Metfs\*89, \*\*p.V150L: variantes de significado desconocido.

### **CMT1B: FAMILIAS RELEVANTES**

En la población con CMT1B identificamos 6 familias con 5 variantes en el gen *MPZ*. Todas las variantes identificadas estaban previamente descritas en la literatura, excepto la variante NM\_000530.7:c.486delC; NP\_000521.2:p. Ile162Metfs\*89. El caso índice (II.1, F80) portador de la variante previamente mencionada, fue un varón que consultó a los 70 años por dolor lumbar irradiado a ambas extremidades inferiores. No reconoce antecedentes familiares de interés. En la exploración neurológica inicial únicamente se objetivó una arreflexia generalizada. El cuadro fue lentamente progresivo, de forma que, a los pocos años de evolución, en la exploración neurológica de control se observó amiotrofia distal de ambas manos con atrofia distal de las piernas. Fuerza conservada en extremidades superiores con debilidad distal en ambos pies y arreflexia generalizada. Hipopalestesia en las cuatro extremidades con sensibilidad táctil y algésica conservadas. La marcha era inestable con necesidad de apoyo de bastón. La ENMG objetivó una polineuropatía sensitivomotora desmielinizante. El estudio de familiares en riesgo, demostró que su hija sin antecedentes personales conocidos y con exploración neurológica normal, presentaba una polineuropatía sensitivomotora desmielinizante en la ENG. El estudio genético descartó duplicaciones/deleciones en *PMP22*, encontrando la variante Ile162Metfs\*89 en el gen *MPZ*. Se estima que esta variante provoca un cambio en el marco de lectura proteico a partir del codón 162 causando un desplazamiento del codón de parada.

FIGURA 30. CMT1B (MPZ): ÁRBOL GENEALÓGICO F80



Familia portadora de la variante Ile162Metfs\*89 en el gen *MPZ* (CMT1B)

TABLA 34. CMT1B (MPZ): HALLAZGOS ENMG F80

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)
III.1	5.3	4.2	40	ND	ND	ND	1.9	3.8	40	1.7	9.8	26

CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)
III.1	11.6	37	11.2	36	NR	NR

### 5.1.3 CMT1C: MUTACIONES EN EL GEN *LITAF*

CMT1C representa <1% de casos de CMT en Galicia.

TABLA 35. CMT1C (*LITAF*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

	CMT1C
N (Familia)	2 (2 familia)
Sexo	Mujer
Edad	56 años
Edad de inicio (años)	Infancia precoz
Edad al diagnóstico (años)	47 años
Herencia	Esporádicos
CMTES	6
Gravedad clínica	Leve
VNCM mediano (m/s)	-
Estudio molecular	p.G112S; *IVS2 C>T

\*IVS2 C>T: variante de significado desconocido.



### 5.1.4 CMT1D: MUTACIONES EN EL GEN *EGR2*

CMT1D fue responsable del 2.9% de CMT y del 3.8% de CMT1 en Galicia. Encontramos dos familias con variantes patogénicas en este gen. Los primeros síntomas presentaron un rango de edad variable; mientras el probando de la familia F-76 refería sus primeros síntomas en la infancia, en la familia F-60 la enfermedad comenzó en la edad adulta.

**TABLA 36. CMT1D (*EGR2*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS**

	CMT1D
N (Familia)	5 (2 familias)
Sexo	3 mujeres, 2 hombres
Edad	54 [35-62]
Edad de inicio (años)	25 [1-48]
Edad al diagnóstico (años)	49 [24-55]
CMTES	6 [2-9]
Gravedad clínica*	N=5
VCNM mediano (m/s)	33 [26-46] m/s
Estudio molecular	R909W, R381C

\*Ver gráfica al inicio del capítulo

### CMT1D: FAMILIAS RELEVANTES

La variante R381C se identificó en una mujer que consultó por debilidad y sensación de hormigueo en extremidades inferiores a la edad de 56 años de curso subagudo (F60). Entre los antecedentes personales presentaba glaucoma, hipertensión arterial, espondiloartrosis y debilidad progresiva de extremidades superiores de larga evolución, no estudiada. Entre los antecedentes familiares únicamente destacar el padre con pie cavo. En la exploración neurológica se observó una amiotrofia distal en ambas manos que afectaba a primer interóseo dorsal, eminencia tenar e hipotenar con pie cavo bilateral. Arreflexia

generalizada y debilidad para flexión de ambas caderas 4/5 con pie caído bilateral (flexión dorsal 0/5, flexión plantar 3/5), debilidad para maniobras de pinza 3/5, hipoestesia táctil distal en extremidades inferiores con una marcha polineurítica. El estudio ENMG demostró una polineuropatía sensitivomotora desmielinizante con pérdida axonal sobreañadida. Se realizaron diversas pruebas complementarias, incluido estudio de LCR donde se objetivó una disociación albúmino-citológica. Tras completar el estudio, dado el inicio subagudo de los síntomas que motivaron la consulta, presencia de síntomas sensitivos positivos y un LCR patológico con el diagnóstico de una CIDP asociada a una probable polineuropatía hereditaria subyacente, se inició tratamiento con pautas mensuales de IG iv. La respuesta clínica fue favorable, con resolución de la debilidad proximal en extremidades inferiores y resolución de síntomas sensitivos positivos. Sin embargo, la debilidad distal y el déficit sensitivo progresó. El estudio molecular, identificó un cambio en heterocigosis en el exón 2 del gen *EGR2*. En el contexto clínico de una polineuropatía hereditaria, se realizó un estudio de portadores a familiares de primer grado (hijos), identificándose la misma variante en uno de sus hijos, asintomático en el momento del estudio, pero con signos clínicos y ENMG de una polineuropatía. En la exploración se objetivó una arreflexia en extremidades inferiores sin otras alteraciones. El estudio ENMG demostró una polineuropatía sensitivomotora con VCNM de nervio mediano en rango intermedio y el estudio molecular confirmó que el paciente era portador de la variante encontrada en la familia.

TABLA 37. CMT1D (EGR2): HALLAZGOS ENMG F60

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)
F60	4.3	6.3	31	0.4	6	23	0.6	6.2	27	NR	NR	NR

CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	AMPLITUD ( $\mu$ V)	VCNS (m/s)	AMPLITUD ( $\mu$ V)	VCNS (m/s)	AMPLITUD ( $\mu$ V)	VCNS (m/s)
F60	1.4	29	1.8	31	7.4	26

### 5.1.5 CMT1F: MUTACIONES EN EL GEN *NEFL*

Las variantes en el gen *NEFL* representan un 2.3% de la población con CMT. Identificamos una familia con CMT1F con una edad de inicio infantil y fenotipo grave de CMT. La variante axonal encontrada en el gen *NEFL* fue una variante de significado desconocido que sí mostraba correlación clínica, en la que no disponemos de estudio de segregación familiar.

TABLA 38. CMT1F (*NEFL*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

	CMT1F	CMT2E
N (Familia)	3 (1 familia)	1 (1 familia)
Sexo	2 mujeres, 1 hombre	1 mujer
Edad (años)	30 (mín. 27 - máx. 57)	74
Edad de inicio (años)	13 (mín. 5 - máx. 15)	50
Edad al diagnóstico (años)	30 (mín. 15 - máx. 45)	72
Herencia	AD	Esporádico
CMTNS	27 (mín. 22 - máx. 33)	13
Gravedad clínica	2 grave, 1 moderado	grave
VNCM mediano (m/s)	11 (mín. 0 - máx. 23)	51 m/s
Estudio molecular	N97S	p.G89P*

\*p.G89P: variante de significado desconocido

## 5.2 CMT DESMIELINIZANTE AR (CMT4)

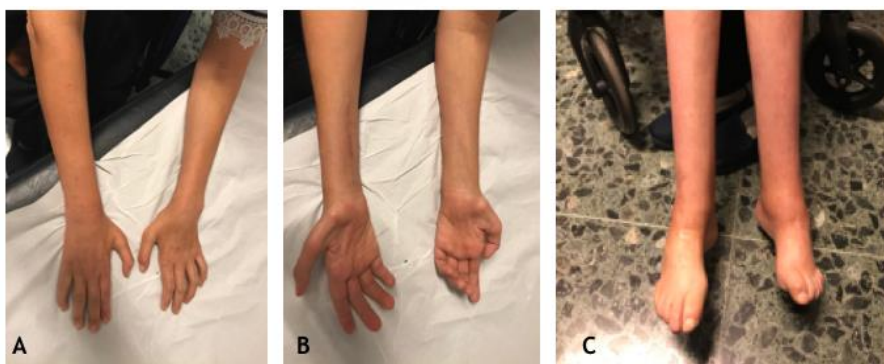
### 5.2.1 CMT4G: MUTACIONES EN EL GEN *HK1*

Los casos con formas desmielinizantes de herencia AR fueron poco frecuentes en nuestra serie. La mayoría están asociados a mutaciones fundadoras en el gen *HK1*, representando un 2.9% de la población de CMT y un 3.8% de CMT desmielinizante. Los primeros síntomas aparecieron durante la infancia dando lugar a una neuropatía de gravedad moderada. La VCNM de nervio mediano registrada fue  $\leq 25$  m/s en el 60% de los casos.

TABLA 39. CMT4G (*HK1*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

CMT4G	
N (Familia)	5 (3 familias)
Sexo	2 mujeres, 3 hombres
Edad (años)	34 [25-50]
Edad de inicio (años)	10 [6-13]
Edad al diagnóstico (años)	26 [21-28]
CMTNS	18 [10-21]
Gravedad clínica	3 moderada, 2 grave
VCNM mediano (m/s)	18 [4-31] m/s

FIGURA 31. CMT4G (*HK1*): DEFORMIDADES ESQUELÉTICAS



En la figura observamos una marcada amiotrofia del músculo primer interóseo y eminencia tenar [A-B]. Pie cavo [C] en un paciente con CMT4G.

### 5.2.2 CMT4C: MUTACIONES EN EL GEN *SH3TC2*

CMT4C fue responsable de un 1% de la población con CMT. Identificamos tres familias con variantes en este gen. Todos los casos fueron esporádicos al no existir antecedentes familiares conocidos.

TABLA 40. CMT4C (*SH3TC2*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

CMT4C	
N (Familia)	3 (3 familia)
Sexo	1 mujer, 2 hombres
Edad (años)	38 (mín. 31 - máx. 47)
Edad de inicio (años)	22 (mín. 2 - máx. 42)
Edad al diagnóstico (años)	40 (mín. 35 - máx. 45)
CMTNS	17 8mín, 13 - máx. 21)
Gravedad clínica	1 leve, 1 grave
VCNM mediano (m/s)	16 (mín. 13 - máx. 20] m/s
Estudio molecular	p.G310E, *p.Asp1229Val, p.Y943X-p.K93K

\*p.Asp1229Val: variante de significado desconocido.

## 5.3 CMT2 AXONAL AD (CMT2)

### 5.3.1 CMT2A: MUTACIONES EN EL GEN *MFN2*

CMT2A fue una de las principales causas de CMT axonal. Encontramos dos variantes de significado desconocido (dos familias) y cuatro variantes patogénicas o probablemente patogénicas. El comienzo de la enfermedad se situó en la segunda década de la vida, causando una neuropatía leve-moderada en la mayoría de casos.

TABLA 41. CMT2A (MFN2): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

CMT2A	
N (Familia)	12 (6 familias)
Sexo	6 mujeres, 6 hombres
Edad (años)	51 [44-62]
Edad de inicio (años)	18 [11-28]
Edad al diagnóstico (años)	41 [31-51]
CMTES	4 [3-7]
Gravedad clínica*	N=11
VCNM mediano (m/s)	56 [49-59] m/s
Estudio molecular	**p.Gly548Glu, **E713del-V705I, c475-2A>G, GLN754AlafsX9, p.A280H,

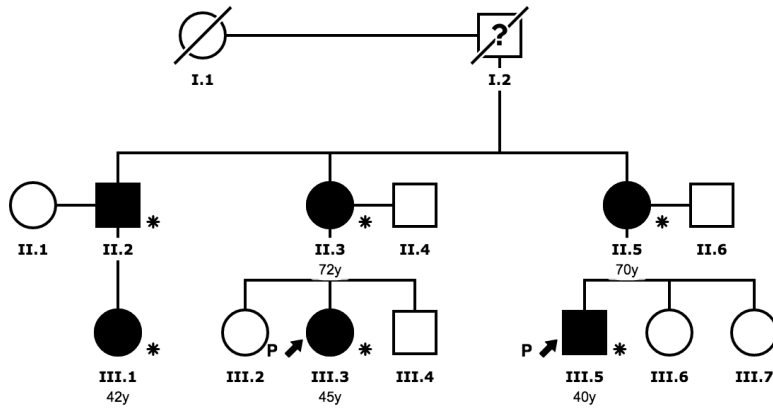
\*Ver gráfica al inicio del capítulo

\*\*p.Gly548Glu; \*\*E713del-V705I: variante de significado desconocido

### 5.3.2 CMT2D: MUTACIONES EN EL GEN *BSCL2*

La variante S90L en el gen *BSCL2* causó el 2.9% de CMT y un 12.8% de CMT2 en Galicia. Esta variante fue identificada en la familia F95, en la cual encontramos un fenotipo clínico muy heterogéneo. En total son seis familiares portadores de la variante S90L, en los cuales la orientación diagnóstica se realizó por dos vías (CMT y paraparesia espástica). El rango de edad de los primeros síntomas fue variable, desde los 8 a los 54 años (16 [8-47] años).

FIGURA 32. CMT2D (BSCL2): ÁRBOL GENEALÓGICO F95



En esta familia el estudio molecular se orientó por dos vías. El probando III-5 fue incluido en un panel de paraparesia espástica tras un panel de CMT negativo, mientras que el caso III-3 de un área sanitaria diferente fue incluido en el estudio de CMT.

La paciente III.3 de 45 años, consultó por un cuadro de dificultad para la marcha y disestesias en ambos pies desde los 25 años, iniciando un seguimiento neurológico a los 30 años. Entre los antecedentes familiares, destacaban varios familiares (II.3) con pie cavo y trastorno de la marcha con fenotipo de una neuropatía hereditaria en estudio. En la exploración observamos pie cavo, debilidad para la flexión dorsal de ambos pies y en menor grado debilidad para la flexión plantar, arreflexia en extremidades inferiores, reflejo cutáneo-plantar extensor bilateral, sensibilidad normal con dificultad para la marcha. La escala CMTES fue de 6. El estudio ENMG objetivó datos de una neuropatía axonal de predominio motor.

El estudio molecular mediante un panel de 8 genes (*PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *EGR2*, *LITAF*, *NEFL*, *GDAP1* y *MFN2*) resultó negativo.

La paciente II.3 de 72 años, consultó por torpeza para caminar y caídas frecuentes desde los 54 años. Entre sus antecedentes personales destacaba una escoliosis y pie cavo. Al igual que mencionamos previamente, existían varios familiares afectos de un trastorno para la marcha en estudio en ese momento. La exploración neurológica mostraba una amiotrofia de eminencia tenar, pie cavo, escoliosis, debilidad para maniobras de pinza y flexión dorsal de ambos pies, arreflexia aquilea bilateral con reflejo cutáneo-plantar indiferente e hipoestesia táctil y algésica distal en ambos pies con una marcha espástica. La escala CMTES fue de 9. El estudio ENMG evidenció datos de una polineuropatía mixta de predominio motor. El estudio molecular de *CMT1A* había detectado un estado de portador heterocigoto en dos SNPs incluidos en el gen *PMP22* (*PMP4144* y *PMP1020*) lo que llevó a realizar un diagnóstico erróneo de *CMT1A* en esta paciente. Tras revisar la historia clínica y antecedentes familiares con un fenotipo no compatible con *CMT1A* se decidió completar el estudio molecular con un panel de CMT.

El paciente III.5, de 40 años en el momento de este estudio, consultó en el servicio de Neurología a los 19 años de edad por un cuadro de dificultad para la marcha y amiotrofia en extremidades, lentamente progresivo que comenzó a los 8 años. Entre los antecedentes personales destaca una cirugía de pie cavo. Los



antecedentes familiares reflejaban que la madre presentaba síntomas similares y varios familiares por vía materna con un trastorno de la marcha sin especificar. En la exploración neurológica se observó pie cavo con dedos en martillo, patas de cigüeña, amiotrofia en ambas manos con mano simiesca, debilidad en ambas manos para maniobras de pinza y flexión dorsal de ambos pies, hiperreflexia rotuliana y arreflexia aquilea, con reflejo cutáneo-plantar extensor bilateral y modalidades sensitivas normales. La marcha resultó polineurítica-espástica con una gravedad clínica moderada (CMTNES fue de 13). El estudio ENMG evidenció una polineuropatía sensitivomotora axonal. Con la sospecha diagnóstica de una polineuropatía con signos piramidales se realizó un estudio molecular de CMT, resultando negativo.

La paciente II.5 de 70 años, sin antecedentes personales, fue estudiada tras ser identificada por su hijo como caso afecto. La paciente presentaba un trastorno de la marcha y amiotrofia de inicio en la infancia. La exploración neurológica demostró amiotrofia en ambas manos con fenotipo de mano simiesca, patas de cigüeña y pie cavo bilateral. Debilidad distal en ambas manos, debilidad de predominio para la flexión dorsal de los pies con hiperreflexia en extremidades superiores y rotuliana, arreflexia aquilea y reflejo cutáneo-plantar extensor. La marcha resultaba polineurítica-espástica. La escala CMTES fue de 10. En este caso, con un estudio de CMT negativo en

su hijo, a continuación, se procedió a realizar un estudio de paraparesia espástica.

La paciente III.1 de 42 años, consultó a los 27 años por un cuadro de tropiezos frecuentes con dificultad para la marcha desde la infancia. Entre los antecedentes familiares en ese momento destacaban dos familiares diagnosticados de CMT (III-3, II-3), su padre en estudio por un cuadro de paraparesia complicada (II-2) y otros familiares con un trastorno de la marcha sin especificar (III-5, II-5). En la exploración se observó pie cavo, debilidad para la flexión dorsal de ambos pies, hiperreflexia generalizada con reflejo cutáneo-plantar extensor bilateral. Las modalidades sensitivas eran normales y la marcha resultaba dificultosa con un marcado “*steppage*”. La escala CMTES fue de 3. El ENMG evidenció una neuropatía axonal de predominio motor. El estudio molecular permitió descartar una duplicación en el gen *PMP22*.

El paciente II.2 consultó en Neurología a los 54 años por un cuadro de dificultad para la marcha con atrofia muscular progresiva y rigidez en ambas extremidades inferiores que comenzó a los 8 años. A partir de la segunda década de la vida asoció amiotrofia y debilidad en las manos. En la exploración neurológica mostraba amiotrofia de eminencia tenar y en ambos cuádriceps con debilidad para maniobras de pinza y una paraparesia espástica. Arreflexia en extremidades superiores con hiperreflexia en extremidades inferiores, reflejo

cutáneo-plantar extensor bilateral, con modalidades sensitivas conservadas. La marcha era muy dificultosa con incapacidad para realizar la marcha de talones. El ENMG demostró una polineuropatía sensitivomotora axonal. En este caso el estudio molecular, se orientó hacia una paraparesia espástica complicada desde su inicio.

En esta familia, encontramos casos con un fenotipo de CMT (II.3, III.3, III.5) y otros casos con un fenotipo predominantemente de paraparesia espástica (II.2, III.1, II.5). El estudio molecular inicialmente había detectado una variante en el gen *PMP22*, que fue descartada al no correlacionarse el fenotipo clínico con un CMT1A. Tras realizar un panel de 8 genes de CMT que también resultó negativo y dada la presencia de piramidalismo en algunos casos y varios familiares con un fenotipo de paraparesia espástica se decidió orientar el diagnóstico molecular a un panel de paraparesia. Este estudio confirmó la presencia de la variante S90L en el exón 3 del gen *BSCL2* que sí se correlacionaba con el fenotipo y mostraba segregación familiar.

**TABLA 42. CMT2D (*BSCL2*): FAMILIA RELEVANTE**

Caso	Sexo	Edad	Inicio	Primer síntoma	Atrofia EESS/EEII	Debilidad EESS/EEII	Sensibilidad	Reflejos	RCP	CMTES
II.2	H	70	8	Dificultad marcha	SI/SI	SI/SI	Normal	0/3	Extensor	ND
II.3	M	72	54	Inestabilidad	SI/NO	SI/SI	Hipoestesia táctil-algésica	2/0	Indiferente	9
II.5	M	70	8	Inestabilidad	SI/SI	SI/SI	Normal	3/0	Extensor	10
III.1	M	43	<10	Tropiezos	NO/NO	NO/SI	Normal	3/3	Extensor	3
III.3	M	45	25	Dificultad marcha y alteración sensitiva	NO/NO	NO/SI	Normal	2/0	Extensor	6
III.5	H	40	8	Dificultad marcha	SI/SI	SI/SI	Normal	2/0	Extensor	9

**TABLA 43. CMT2D (BSCL2): HALLAZGOS ENMG F95**

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)
III.1	4.1	4.8	63	ND	ND	ND	0.5	3.2	51	NR	NR	NR
III.5	0.7	5.9	27	0.4	3.5	33	2.8	2.8	47	0.1	6.2	32

CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	AMPLITUD (µV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (µV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (µV)	VCNS (m/s)
III.1	37	55	14.6	43	8.0	41
III.5	17	54	5.0	43	4.0	41

### 5.3.3 CMT2E: MUTACIONES EN EL GEN NEFL

La variante axonal identificada en el gen *NEFL* fue una variante de significado desconocido que sí mostraba correlación clínica; sin embargo, no disponemos de estudio de segregación familiar.

**TABLA 44. CMT2E (NEFL): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS**

	CMT1F	CMT2E
N (Familia)	3 (1 familia)	1 (1 familia)
Sexo	2 mujeres, 1 hombre	1 mujer
Edad (años)	30 (min. 27 - máx. 57)	74
Edad de inicio (años)	13 (min. 5 - máx. 15)	50
Edad al diagnóstico (años)	30 (mín. 15 - máx. 45)	72
Herencia	AD	Esporádico
CMTNS	27 (mín. 22 - máx. 33)	13
Gravedad clínica	2 grave, 1 moderado	grave
VCNM mediano (m/s)	11 (min. 0 - max. 23)	51 m/s
Estudio molecular	N97S	p.G89P*

\*p.G89P: variante de significado desconocido

### 5.3.4 CMT2I: MUTACIONES EN EL GEN *MPZ*

Identificamos la variante p.V150L en el gen *MPZ* en dos casos cuyo árbol genealógico determinó que pertenecen a la misma familia, al demostrarse un ancestro común. Esta variante no fue descrita hasta el momento y presenta una baja frecuencia en la población sin CMT. En ambas familias la edad de inicio de los primeros síntomas fue en la edad adulta.

TABLA 45. CMT2I (*MPZ*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

	CMT1B	CMT2I
N (Familia)	12 (6)	9 (2)
Sexo	8 mujeres, 4 hombres	6 mujeres, 3 hombres
Edad (años)	55 [50-70]	62 [52-70]
Edad de inicio (años)	39 [21-46]	47 (min. 39 - max. 50)
Edad al diagnóstico (años)	44 [42-53]	58 [50-68]
CMTES	4 [2-6]	2 [0-3]
Gravedad clínica*	N=10	N=9
VCNM mediano (m/s)	26 [18-28] m/s	43 [40-44] m/s
Estudio molecular	p.G93A, p.R98H, p.Y82C, 1172fs262 en el exón 4, **Ile162Metfs*89	**p.V150L

\*Ver gráfica al inicio del capítulo

\*\*Ile162Metfs\*89, \*\*p.V150L: variantes de significado desconocido.

### CMT2I: FAMILIAS RELEVANTES

Detectamos dos casos con CMT2 con una variante en el gen *MPZ* (p.V150L). El estudio de familiares a riesgo demostró que todos los casos sintomáticos presentaban signos y/o síntomas clínicos y ENMG de polineuropatía resultando ser portadores heterocigotos de dicha

varainte. Ninguno de los casos asintomáticos presentó dicha variante. El estudio genealógico mostró que ambos casos tenían un ancestro común.

El caso índice (III.6) de 62 años refería los primeros síntomas a los 50 años, cursando con dolor, acorchamiento e inestabilidad de la marcha. La exploración neurológica mostró pie cavo bilateral, dedos en martillo, escoliosis, debilidad distal en extremidades superiores, debilidad proximal y distal en extremidades inferiores y arreflexia. Todas las modalidades sensitivas se encontraban alteradas en extremidades inferiores. La marcha era inestable con necesidad de apoyo de dos muletas para deambular, configurando un cuadro con una gravedad moderada. La ENMG demostró una polineuropatía sensitivomotora de predominio axonal en extremidades inferiores. El estudio histológico de nervio sural mostró un marcado decremento de las fibras mielínicas de mayor diámetro en todos los fascículos. El estudio genético mediante *NGS* con un panel de 14 genes identificó la variante NM\_000530(MPZ):c.G448T;NP\_000521:p.V150L en heterocigosis. En el estudio de familiares en riesgo, encontramos que todos los casos con síntomas o estudio ENMG patológico eran portadores, mientras que en ninguno de los asintomáticos se detectó dicha variante. La paciente III.1 de 69 años sin antecedentes conocidos, se encontraba asintomática en el momento del estudio. La exploración neurológica únicamente mostró una arreflexia de extremidades inferiores con una polineuropatía sensitivomotora en el

estudio ENG. El caso III.5 de 64 años refería parestesias en las cuatro extremidades con inestabilidad de la marcha de larga evolución, por lo que precisaba bastón para deambular trayectos largos. En la exploración neurológica se observó pie cavo bilateral, dedos en martillo, retracción aquílea con leve amiotrofia de grupo anterior de la pierna. La fuerza estaba conservada y la sensibilidad mostró una hipoestesia táctil y algia con patrón en guante y calcetín con hipopalestesia distal en extremidades inferiores. La ENMG evidenció una polineuropatía sensitivomotora, de predominio sensitivo, de carácter axonal. El paciente III.7 de 57 años se encontraba asintomático en el momento del estudio. La exploración neurológica demostró pie cavo bilateral, arreflexia de extremidades inferiores y una leve amiotrofia de grupo anterolateral de la pierna. La paciente III.8 de 55 años, tampoco refería ningún síntoma durante la anamnesis. En la exploración neurológica se observó amiotrofia del grupo anterior de la pierna, pie cavo bilateral, arreflexia en extremidades inferiores y dificultad para la marcha de talones.

El segundo caso en la que identificamos la variante p.V150L en heterocigosis es un paciente (IV.2) de 43 años que consultó por un cuadro de dolor y hormigueos de inicio a los 39 años. En la exploración neurológica se observó una leve amiotrofia de eminencia tenar y primer interóseo dorsal con arreflexia generalizada. El resto de la exploración resultó normal. La ENMG evidenció una polineuropatía con VCNM de nervio mediano en rango intermedio. Se

realizó diagnóstico diferencial no identificando ninguna etiología adquirida que justificase el cuadro clínico. El estudio genético confirmó la presencia de la variante p.V150L en heterocigosis. El estudio de familiares a riesgo, identificó 3 familiares portadores de dicha variante. La paciente III.10 de 75 años diagnosticada de fibromialgia por cuadro de dolor mixto de las cuatro extremidades de larga evolución. En la exploración neurológica se objetivó arreflexia de extremidades inferiores, pie plano con dedos en martillo, debilidad para la flexión dorsal de los dedos de los pies y dificultad para la marcha de talones y en tándem. La ENMG confirmó la presencia de una polineuropatía sensitivomotora con VNMM en rango intermedio. El caso III.11 de 71 años presentaba dolor de características neuropáticas en extremidades inferiores de larga evolución y calambres frecuentes. La exploración reveló arreflexia de extremidades inferiores, hipoestesia táctil y algésica en las cuatro extremidades con dificultad para la marcha en tándem. Por último, el caso IV.3 de 49 años se encontraba asintomático. En la exploración neurológica se encontró un pie cavo, amiotrofia de grupo anterolateral de las piernas y arreflexia de extremidades inferiores.



FIGURA 33. CMT2I (MPZ): ÁRBOL GENEALÓGICO F85

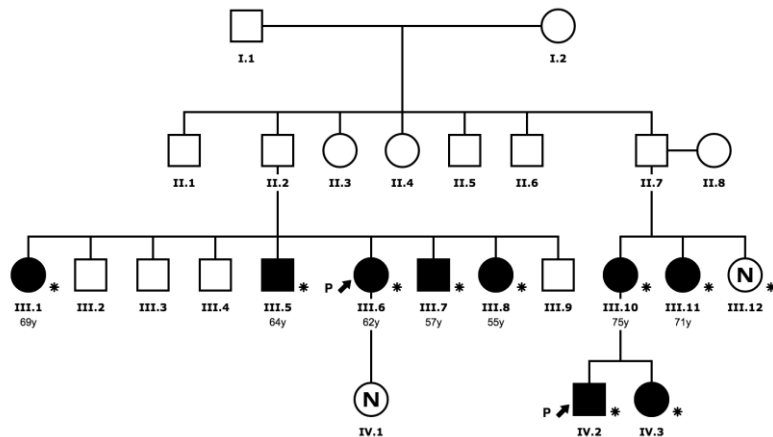


TABLA 46. CMT2I (MPZ): FAMILIAS RELEVANTES

	SEXO	EDAD	EDAD INICIO	ATROFIA EESS/EEII	DEBILIDAD EESS/EEII	SENSIBILIDAD	REFLEJOS EESS/EEII	CMTES/CMT NS
III.1	M	69	Asint.	No	No/No	Normal	1/0	1
III.5	H	64	NS/NC	No/Si	No/No	Reducida	2/0	7
III.6*	M	62	50	No/No	Si/Si	Normal	1/0	19
III.7	H	57	Asint.	No/Si	No/No	Reducida	1/0	0
III.8	M	55	Asint.	No/Si	No/No	Normal	2/0	0
III.10	M	75	Asint.	No/No	No/Si	Normal	1/0	3
III.11	M	71	Asint.	No/No	No/No	Reducida	2/1	2
IV.2*	H	43	39	Si/No	No/No	Normal	0/0	2
IV.3	M	49	Asint.	No/Si	No/No	Normal	1/0	0

TABLA 47. CMT2I (MPZ): HALLAZGOS ENMG F85

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)
III.1	6.5	5.7	43	8.6	3.0	53	3.6	4.2	37	7.5	4.5	42
III.5	7.6	4.7	40	7.1	3.4	48	3.7	2.8	31	5.0	4.5	35
III.6*	10	4.6	44	10.0	3.0	43	1.3	5.3	35	2.6	5.4	33
III.7	9.5	3.7	43	11.5	3.4	45	4.4	5.7	36	4.6	4.9	38
III.8	10	4.0	39	8.6	3.7	41	2.0	4.5	31	10.0	4.5	33
III.10	5.7	3.0	41	5.0	3.0	41	3.0	3.6	37	1.0	8.0	35
III.11	9.8	4.0	45	10.4	2.6	48	3.2	4.2	41	4.5	5.5	44
IV.2*	12	3.6	44	8.0	3.0	45	7.0	3.0	36	15.0	5.0	38
IV.3	10	3.5	41	9.0	2.0	46	3.0	5.0	38	11.0	5.0	38

	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	AMPLITUD (µV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (µV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (µV)	VCNS (m/s)
III.1	4.0	27	6.0	41	NR	NR
III.5	NR	NR	NR	NR	NR	NR
III.6*	NR	NR	NR	NR	NR	NR
III.7	12.0	38	10.0	35	24.0	31
III.8	15.0	33	4.0	37	19.0	37
III.10	9.0	37	11.0	35	NR	NR

III.11	16.0	43	12.0	39	14.0	39
IV.2*	12.0	45	20.0	40	10.0	35
IV.3	37.0	38	29.0	45	27.0	39

### 5.3.5 CMT2K: MUTACIONES EN EL GEN *GDAP1*

CMT2K fue una de las principales causas de CMT2 (26.3%) en Galicia. Encontramos dos familias con la variante p.R226del con 10 familiares portadores de dicha variante. El rango de edad de inicio de los síntomas fue desde los 9 a los 60 años, con una gravedad clínica leve (N=7/10) o moderada (N=3/10).

TABLA 48. CMT2K (*GDAP1*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

CMT2K	
N (Familia)	10 (2 familias)
Sexo	8 mujeres, 2 hombres
Edad (años)	52 [45-80]
Edad de inicio (años)	37 [10-52]
Edad al diagnóstico (años)	44 [29-71]
Herencia	AD
CMTNS	1 [0-13]
Gravedad clínica*	N=10
VCNM mediano	56 [50-61] m/s
Estudio molecular	p.R226del

\*Ver gráfica al inicio del capítulo

### CMT2K: FAMILIAS CLÍNICAMENTE RELEVANTES

Identificamos dos familias procedentes de dos áreas sanitarias diferentes en la Comunidad Autónoma de Galicia, sin ancestros comunes, portadoras de la mutación p.R226del en el exón 5 del gen *GDAP1*.

En la valoración neurológica incluimos una anamnesis detallada sobre los antecedentes personales y familiares, historia clínica, exploración física, estudio neurofisiológico e histológico. Realizamos

un árbol genealógico de cada familia (familia A y B), que nos permitió identificar el mayor número posible de familiares en riesgo (A-II:1, A-II:2, A-II:3, A-III:1, A-III:2; B-I:1, B-II:2, B-II:3, B-II:4, B-II:5, B-II:6 y B-III:1). El grado de discapacidad fue valorado mediante la escala CMTNS (leve <10, moderado 11-20, grave 21-36). El estudio hisotológico mediante biopsia de nervio sural se realizó en el caso índice B-II:2.

La edad de inició de la enfermedad, en el caso índice de cada una de las familias (paciente A-III:1 y B-II:2), fue en la infancia. En ambos casos, los síntomas de inicio fueron la atrofia muscular, pies cavos, inestabilidad de la marcha y debilidad en extremidades inferiores. La exploración neurológica realizada en la tercera década de la vida mostró una debilidad en extremidades superiores e inferiores (proximal y distal en el caso A-III:1 y sólo distal en el caso B-II:2), arreflexia generalizada, atrofia de músculo peroneo y musculatura intrínseca de las manos, hipoestesia distal en las cuatro extremidades y un temblor postural de ambas manos. El grado de discapacidad evaluado mediante la escala CMTNS fue leve-moderado.

El paciente A-II:1 fue valorado a los 74 años de edad. En ese momento, como antecedentes personales presentaba un cuadro de artrosis y una enfermedad cerebrovascular de pequeño vaso. El paciente refería un comienzo de los síntomas a los 50 años con calambres, parestesias y debilidad de extremidades inferiores. Sin embargo, desde los 25 años ya presentaba una leve inestabilidad de la

marcha, por lo que la duración de la enfermedad posiblemente era más prolongada. En la exploración neurológica se observó debilidad proximal en extremidades superiores, debilidad distal en extremidades inferiores, arreflexia, atrofia peroneal y abolición de todas las modalidades sensitivas con una ataxia sensitiva. La escala CMTNS mostró una discapacidad grave.

El paciente A-II:3 fue evaluado a los 72 años. En la anamnesis el paciente únicamente refería calambres en extremidades inferiores, sin embargo, durante la exploración neurológica observamos atrofia de musculatura intrínseca de ambas manos con atrofia distal en extremidades inferiores, leve debilidad para la flexión dorsal de los pies con arreflexia.

Los pacientes B-II:3 y B-II:4 de 45 y 43 años respectivamente, presentaban como único antecedente una escoliosis desde la infancia. Los síntomas referidos por ambos pacientes eran muy leves, consistentes en parestesias y calambres en extremidades inferiores, así como, un temblor postural de ambas manos desde los 30 años en el caso B-II:4. En la exploración neurológica observamos una leve debilidad para la flexión dorsal de los dedos de ambos pies con arreflexia en extremidades inferiores. La neurografía sensitiva en extremidades inferiores estaba alterada en ambos casos.

En ambas familias, identificamos cuatro familiares en riesgo asintomáticos (A-III:2, B-I:1, B-II:6 y B-III:1); sin embargo, la

exploración neurológica y el ENG estaban alterados. El paciente B-II:5 no refería síntomas y su exploración neurológica fue normal.

**TABLA 49. CMT2K (GDAP1): FAMILIAS RELEVANTES**

Caso	Sexo	Edad (años)	Inicio (años)	Primer síntoma	Atrofia EESS/EEII	Debilidad EESS/EEII	Sensibilidad EESS/EEII	Reflejos EESS/EEII	CMTNS
A-II:1	H	74	50	Debilidad EEII	No/Si	Si/Si	Reducida/Reducida	1/0	21/36
A-II:3	M	72	72	Calambres	Si/Si	No/Si	Normal/Normal	0/0	
A-III:1*	M	41	9	Debilidad EEII	No/Si	Si/Si	Reducida/Reducida	0/0	17/36
A-III:2	M	40	NA	Asintomático	No/No	No/No	Normal/Normal	0/0	
B-I:1	H	71	NA	Asintomático	No/No	No/No	Normal/Normal	2/0	2/36
B-II:2*	M	49	Infancia	Torpeza, debilidad EEII	Si/Si	Si/Si	Reducida/Reducida	1/0	8/36
B-II:3	M	45	40	Parestesias EESS	No/No	No/Si	Normal/Normal	2/0	2/36
B-II:4	M	43	39	Parestesias	No/No	No/Si	Normal/Normal	2/0	2/36
B-II:6	M	29	NA	Asintomático	No/No	No/No	Normal/Normal	2/0	0/36
B-III:1	M	23	NA	Asintomático	No/No	No/No	Normal/Normal	2/2	0/36

Caso índice (\*). H: hombre. M: mujer. NA: no aplica. EESS: extremidades superiores. EEII: extremidades inferiores. Reflejos musculares (0 arreflexia, 1 hiporeflexia, 2 normal).

En el estudio ENG observamos una neuropatía sensitivo motora axonal en cuatro pacientes (A-II:1, A-III:1, B-I:1, B-II:2) y una neuropatía sensitiva axonal que afectaba predominantemente a las extremidades inferiores en casos paucisintomáticos o asintomáticos (B-II:3, B-II:4, B-II:6, B-III:1). En cuatro casos observamos una reducción en el CMAP de nervio tibial y peroneal, mientras que sólo en un caso observamos reducción del CMAP en nervio mediano. La neurografía sensitiva de nervio mediano fue normal en la mayoría de los pacientes, sin embargo, la amplitud del potencial sensitivo de nervio sural estaba alterada. En la electromiografía de aguja observamos ondas positivas y fibrilaciones con un trazado neurogénico crónico en extremidades inferiores.

TABLA 50. CMT2K (*GDAP1*): HALLAZGOS ENMG

	MEDIANO			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)
A-II:1	8.9	3.6	48	3.1	6.0	38.7	0.6	7.3	37.8
A-II:3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
A-III:1*	6.1	3.5	50	1.78	3.3	54	NR	NR	NR
A-III:2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B-I:1	4.5	4.3	53	1.6	3.7	42	1.9	3.6	45
B-II:2*	6.8	3.8	51	1.3	5.1	48	0.66	5.5	36
B-II:3	12.3	2.8	59	6.05	3.7	48	13.8	3.5	51
B-II:4	16.1	2.4	61	6.2	2.8	52	14.6	2.7	51
B-II:6	12.2	2.6	61	11.5	3.0	61	12.2	2.4	53
B-III:1	6.6	3.5	61	5.15	4.1	57	12.9	4.5	41

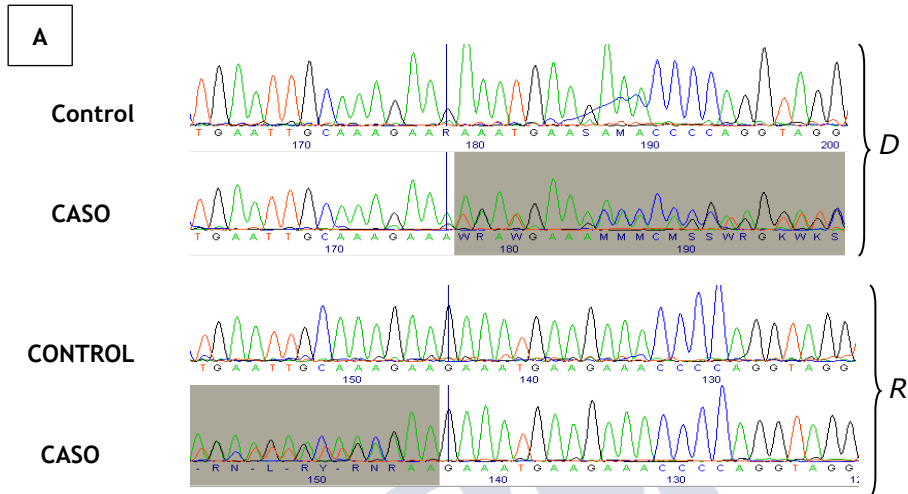
CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		SURAL	
	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)
A-II:1	NR	NR	NR	NR
A-II:3	ND	ND	ND	ND
A-III:1*	4.15	40	NR	NR
A-III:2	ND	ND	ND	ND
B-I:1	14.9	43	NR	NR
B-II:2*	14.1	51	NR	NR
B-II:3	22.5	48	NR	NR
B-II:4	14.9	56	4.6	49
B-II:6	31.7	52	NR	NR
B-III:1	32.6	52	3.9	47

ND: no disponible. NR: sin respuesta.

El análisis molecular realizado en los pacientes A-III:1 y B-II:2, mediante secuenciación de los exones codificantes en los genes *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *EGR2*, *GDAP1*, *LITAF*, *NEFL*, *MFN2*, *HSPB1*, *HSPB8* y *RAB7* demostró una delección de tres nucleótidos (GAA) en heterocigosis, en el exón 5 del gen *GDAP1*. Esta delección conlleva una pérdida de arginina en posición 226 (NM\_018972.2:c.677\_679del; NP\_061845:p.R226del). En los

familiares a riesgo (A-II:1, A-II:2, A-II:3, A-III:2, B-I:1, B-II:3, B-II:4, B-II:5, B-II:6 y B-III:1) realizamos un análisis directo del exón 5 del gen *GDAP1*, confirmándose la presencia de dicha variante en varios familiares. Con el objetivo de valorar el posible significado patogénico de la variante Arg226del se comprobó que esta variante no se había identificado en ninguna base de datos de mutaciones ni registro de variantes genéticas poblacionales; no se identificó en ninguno de los 365 cromosomas analizados en la población española sin neuropatía. El análisis de microsatélites incluidos en la región de *GDAP1* identificó un haplotipo común compartido por todos los portadores de la variante en estudio y ausente en los no portadores (B-II:5) lo que nos indica un efecto fundador. No se identificaron otras variantes en los genes analizados.

FIGURA 34. CMT2K (*GDAP1*): ELECTROFEROGRAMAS



En la figura 34 (A y B) se representa la variante identificada en el gen *GDAP1*: se trata de una delección de tres nucleótidos (GAA) en el exón 5 del gen, lo que provoca la ausencia de una arginina en la secuencia proteica.



FIGURA 35. CMT2K (*GDAP1*): ARBOL GENEALÓGICO FAMILIA A

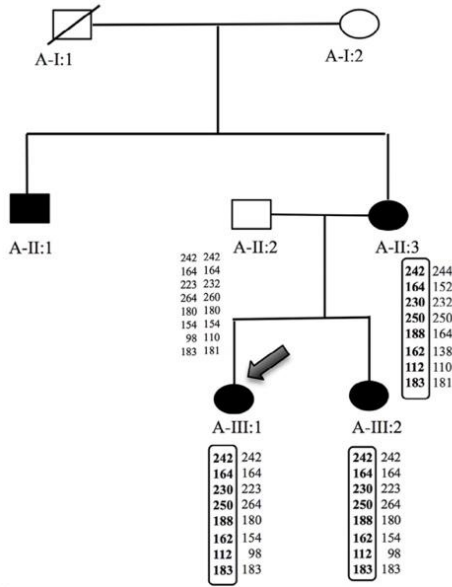
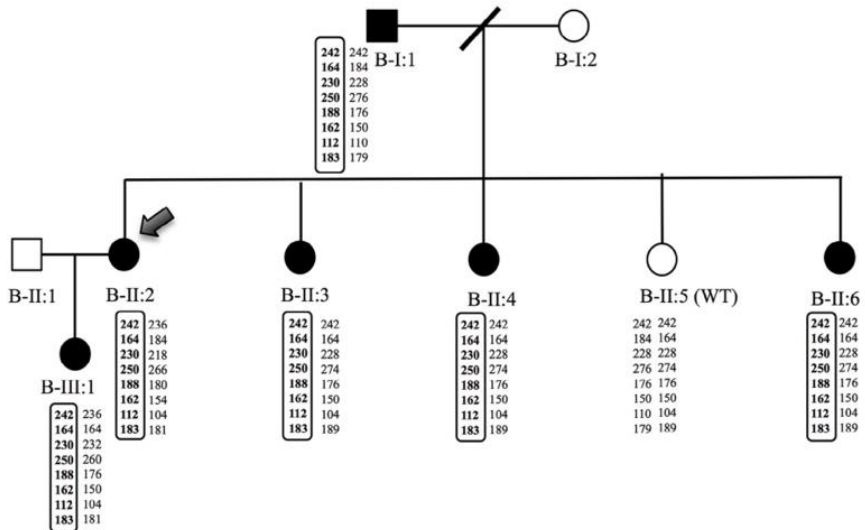
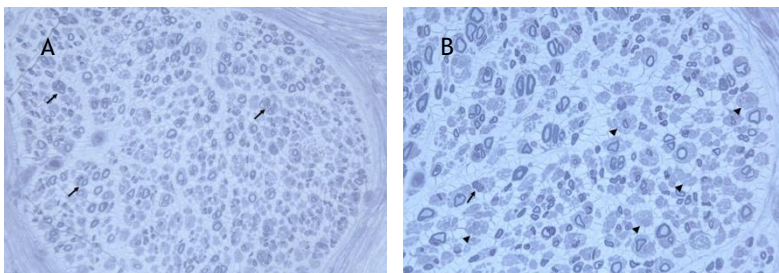


FIGURA 36. CMT2K (*GDAP1*): ARBOL GENEALÓGICO FAMILIA B

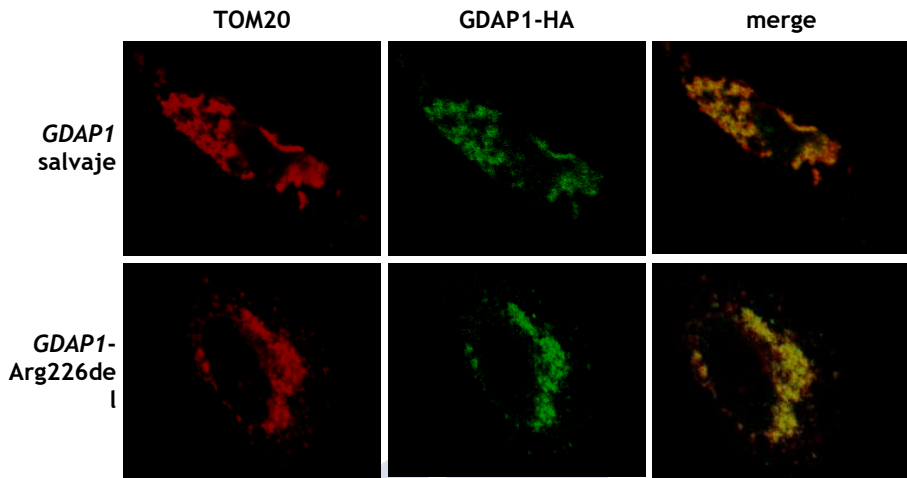


En el paciente B-II:2 realizamos una biopsia de nervio sural. El estudio histológico demostró una reducción en la densidad de fibras mielínicas con una pérdida predominante de las fibras de mayor diámetro y signos de degeneración axonal. No se observaron signos de desmielinización, remielinización ni bulbos de cebolla. En el estudio de microscopia electrónica no se observó ninguna alteración relevante en la morfología mitocondrial. Para determinar el efecto patogénico de la mutación identificada sobre la dinámica mitocondrial, se introdujo la mutación *GDAP1*-Arg226del en células HeLa. Los cambios en la morfología mitocondrial se clasificaron en cinco patrones (agregado tubular, mixto, vesicular y fragmentado) en función de la distribución a nivel celular. Observamos como la proteína TOM20 (de la membrana exterior de la mitocondria) y *GDAP1* colocalizan, y como las células con el alelo mutado presentan un patrón menos fragmentado y más agregado, sugiriendo que hay una fisión defectuosa. Estos hallazgos son concordantes con lo descrito previamente en la literatura para mutaciones axonales dominantes en el gen *GDAP1*.

FIGURA 37. CMT2K (*GDAP1*): BIOPSIA DE NERVIOS SURAL



En la figura 37 observamos una reducción en la densidad de fibras mielínicas con una pérdida predominante de las fibras de mayor diámetro (A), con la presencia de Bandas de Bünger (B).

FIGURA 38. CMT2K: CARACTERIZACIÓN DE LA VARIANTE *GDAP1*-Arg226del

Tras incluir la variante Arg226del en células HeLa, observamos cambios en la morfología mitocondrial. En las células con el alelo mutado las mitocondrias presentan un patrón menos fragmentado y más agregado, sugiriendo que hay una fisión defectuosa.

La identificación de la variante Arg226del en el gen *GDAP1* fue publicada en el año 2017 en la revista *Neuromuscular Disorders* con el siguiente título:

**Título:** “Phenotypical features of a new dominant *GDAP1* pathogenic variant (p.R226del) in axonal Charcot-Marie-Tooth disease”.

**Autores:** García-Sobrino T, Blanco-Arias P, Palau F, Espinós C, Ramirez L, Estela A, San Millán B, Arias M, Sobrido MJ, Pardo J.

**Revista:** *Neuromuscul Disorders* 2017;27:667-672.

**DOI:** 10.1016/j.nmd.2017.01.008.

**PMID:** 28236508.

**ISSN:** 0960-8966.

**eISSN:** 1873-2364.

Además, en ese mismo año, realizamos un estudio multicentrico nacional, cuyo objetivo fue describir la relación genotipo-fenotipo de las diferentes mutaciones en el gen *GDAPI* identificadas en España. La publicación derivada de este estudio se incluye al final de esta tesis en el anexo II:

**Título:** “Distribution and genotype-phenotype correlation of *GDAPI* mutations in Spain”.

**Autores:** Sivera R, Frasquet M, Lupo V, **García-Sobrino T**, Blanco-Arias P, Pardo J, Fernández-Torrón R, de Munain AL, Márquez-Infante C, Villarreal L, Carbonell P, Rojas-García R, Segovia S, Illa I, Frongia AL, Nascimento A, Ortez C, García-Romero MDM, Pascual SI, Pelayo-Negro AL, Berciano J, Guerrero A, Casasnovas C, Camacho A, Esteban J, Chumillas MJ, Barreiro M, Díaz C, Palau F, Vílchez JJ, Espinós C, Sevilla T.

**Revista:** Scientific Reports 2017;7(1):6677.

**DOI:** 10.1038/s41598-017-06894-6.

**PMID:** 28751717.

**ISSN:** 2045-2322.

### 5.3.6 CMT2Z: MUTACIONES EN EL GEN *MORC2*

En Galicia identificamos una única variante en el gen *MORC2* con un índice de patogenicidad no concluyente. El caso índice es un hombre de 77 años con un comienzo de la enfermedad en la 5ª década de la vida. El paciente relata un cuadro de torpeza para la marcha desde la infancia con caídas frecuentes motivo por el que usó plantillas hasta la juventud. Refiere estabilidad clínica con una capacidad funcional sin limitaciones desde la segunda hasta la quinta década cuando aprecia déficit motor progresivo. A partir de los 50 años aprecia dificultad para la marcha con mayor torpeza en extremidad inferior izquierda, dificultad para subir escaleras o incorporarse de un asiento, tropiezos frecuentes, calambres y sensación de acorchamiento en ambos pies. En la exploración neurológica observamos amiotrofia de eminencia tenar con pie cavo y dedos en martillo. Debilidad para maniobras de pinza izquierda (4/5), debilidad 4/5 para flexión de ambas caderas, hiporreflexia en extremidades superiores y arreflexia en extremidades inferiores. La sensibilidad vibratoria estaba ausente en extremidades inferiores con leve alteración de la propiocepción. La marcha era inestable con incapacidad para la marcha de talones, por lo que requiere de un bastón. Además, se observó un temblor postural en ambas manos; todo ello configuraba una neuropatía de gravedad moderada (CMTNS 15). La ENMG demostró una polineuropatía sensitivomotora axonal, de predominio motor y con mayor afectación de extremidades

inferiores, con la presencia de denervación activa y un trazado neurogénico en la electromiografía de aguja en extremidades inferiores. Una RM muscular objetivó una atrofia de los músculos semimembranoso, gastrocnemios y soleo. El estudio histológico realizado en otro centro resultó compatible con un proceso neurógeno. El estudio molecular mediante un panel de genes de CMT2 detectó la variante c.454G>C, en heterocigosis, en el exón 8 del gen *MORC2*. Esta variante es responsable de un cambio aminoacídico de una alanina a una prolina en la posición 152 de la proteína (p.Ala152Pro). Esta variante no se describió en las bases de datos de mutaciones y los algoritmos de predicción *in silico* no son concluyentes.

FIGURA 39. CMT2Z (*MORC2*): ÁRBOL GENEALÓGICO F129

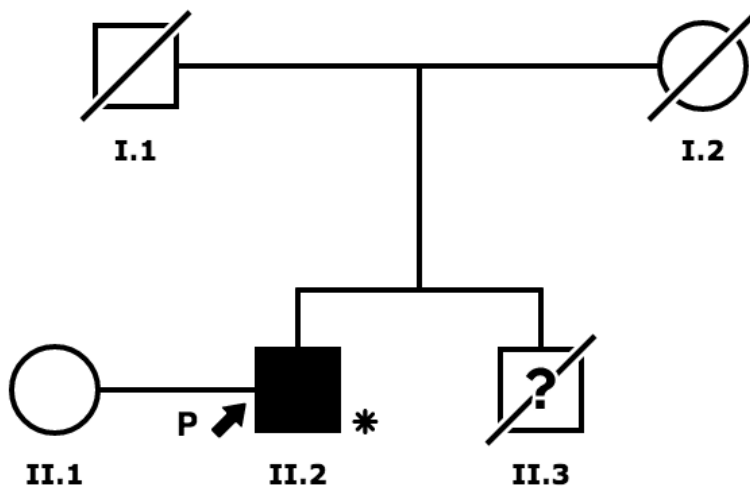


TABLA 51. CMT2Z (MORC2): HALLAZGOS ENMG F129

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)
II.2	5.6	4.5	42	10.2	3.0	37	0.6	5.6	36	0.9	4.6	34

CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	AMPLITUD ( $\mu$ V)	VCNS (m/s)	AMPLITUD ( $\mu$ V)	VCNS (m/s)	AMPLITUD ( $\mu$ V)	VCNS (m/s)
II.2	13.0	37	9.0	36	4.0	31

## 5.4 CMT2 AXONAL AR (ARCMT2)

### 5.4.1 CMT2T: MUTACIONES EN EL GEN *MME*

CMT2T representa el 1.2% de la población con CMT. Identificamos dos casos con la variante c.46delC previamente descrita. El comienzo de la enfermedad ocurrió en la edad adulta causando una discapacidad de moderada a grave.

Tabla 52. CMT2T (*MME*): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS

	CMT2T
N (Familia)	2 (2 familia)
Sexo	2 hombres
Edad (años)	69 (mín. 61 - máx 67)
Edad de inicio (años)	46 (mín. 45 - máx. 48)
Edad al diagnóstico (años)	58 (mín. 54 - máx. 58)
Herencia	Esporádicos
CMTNS	11 [10-13]
Gravedad clínica	1 moderado, 1 grave
VCNM mediano	45 m/s
Estudio molecular	c.467del

El caso índice (II.1) de la familia F94 es un hombre de 61 años sin antecedentes personales ni familiares conocidos. El paciente consultó por un cuadro de dificultad para la marcha progresivo de inicio a los 50 años. Refería debilidad en ambas piernas, de predominio izquierdo con caídas frecuentes; así como calambres frecuentes. En la exploración neurológica se observó pie cavo bilateral y patas de cigüeña. Debilidad para maniobras de pinza izquierda, debilidad para la flexión de la cadera izquierda (4/5) y flexión dorsal de ambos pies de predominio izquierdo (3/5) con arreflexia generalizada. La exploración de la sensibilidad fue normal en la primera consulta, sin embargo, a lo largo de la evolución comenzó con disestesias asimétricas distalmente en ambas extremidades inferiores e hipopalestesia. La marcha resultaba dificultosa con incapacidad para realizar la marcha de talones y dificultad para la marcha de puntas. Se observó además abundantes fasciculaciones en musculatura de extremidades inferiores y un temblor postural en las manos. La escala CMTES fue de 13. Se realizaron diversos estudios descartando causas adquiridas del cuadro clínico. La ENMG demostró una polineuropatía sensitivomotora axonal. La EMG de aguja evidenció abundante denervación activa de predominio en musculatura distal de extremidades inferiores con un trazado neurogénico simple en las cuatro extremidades. Se realizó una RM de músculo de extremidades inferiores donde observamos hipotrofia e infiltración grasa de



predominio en músculos gastrocnemios y sóleos, así como edema en estos músculos en secuencia STIR y en menor grado en musculatura peroneal y tibial anterior. Tras descartar causas adquiridas del cuadro clínico con la sospecha de una polineuropatía hereditaria se realizó un panel de 14 genes de CMT2 (*AARS*, *DYNC1H1*, *GARS*, *GDAP1*, *GJB1*, *HSPB1*, *HSPB8*, *LMNA*, *MED25*, *MFN2*, *NEFL*, *RAB7A* y *TRPV4*) resultando negativo dicho estudio. En el año 2016 se decide ampliar el estudio molecular mediante NGS identificándose la variante patogénica c.466delC, en homocigosis, en el gen *MME*.

FIGURA 40. CMT2T (*MME*): DEFORMIDADES ESQUELÉTICAS F94

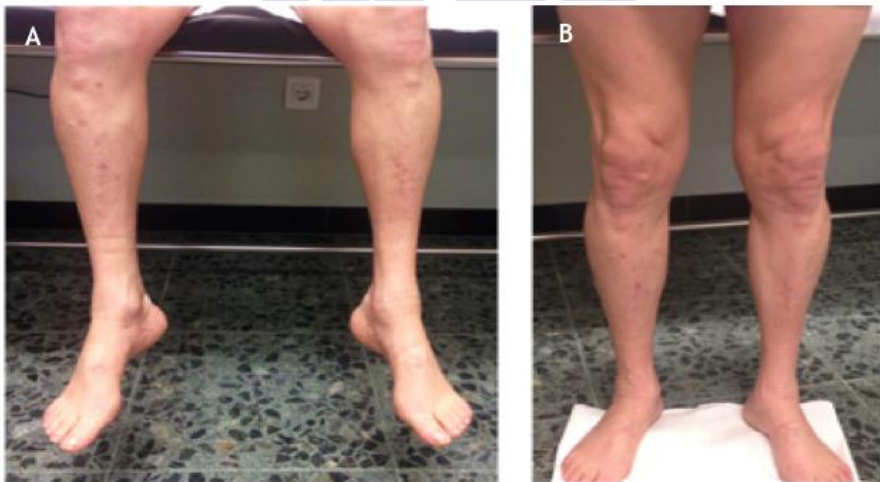
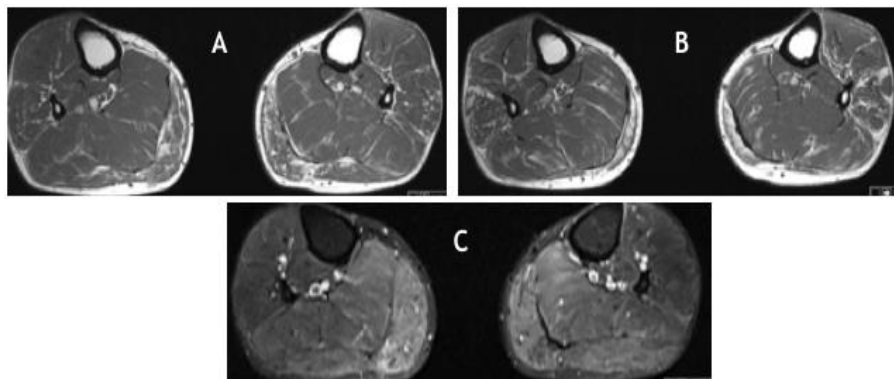


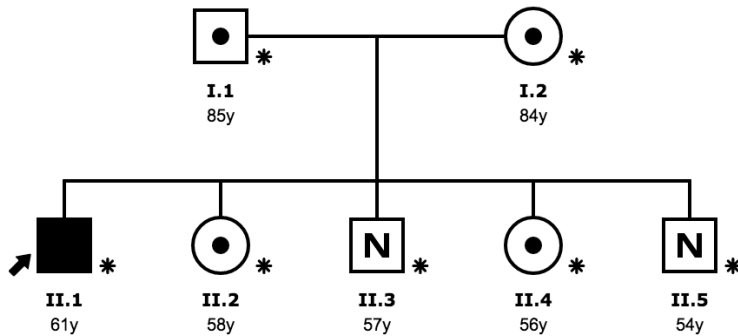
FIGURA 41. CMT2T (MME): RMN MÚSCULO F94



RM músculo (A-B): Amiotrofia e infiltración grasa de gastrocnemios.  
RM músculo secuencia STIR (C): Edema de músculos gastrocnemios y soleos.

Tras confirmar el diagnóstico de nuestro paciente, se realizó estudio de portadores en los progenitores y hermanos del caso. Ambos progenitores (I.1 y I.2) de 85 y 84 años respectivamente, se encontraban asintomáticos sin signos de polineuropatía en la exploración neurológica. El estudio ENMG del paciente I.1 resultó normal para la edad y condición física. El estudio molecular mostró que ambos progenitores eran portadores en heterocigosis de la variante identificada. Los cuatro hermanos del paciente se encontraban asintomáticos en el momento de la valoración clínica con una exploración neurológica anodina. La ENMG realizada en los casos II.2, II.3 y II.5 resultó normal. El estudio genético demostró que los casos II.2 y II.4 eran portadores heterocigotos al igual que ambos progenitores.

FIGURA 42. CMT2T (MME): ÁRBOL GENEALÓGICO F94



El segundo caso identificado (F101) con una mutación en el gen *MME*, es un hombre de 77 años con un cuadro de dolor de tipo neuropático y calambres en las cuatro extremidades de inicio a los 45 años. A partir de la 5ª década progresivamente asocia sensación de acorchamiento y disestesias en las piernas con dificultad para caminar, sobre todo para elevar los pies y subir escaleras, así como leve debilidad en las manos. Entre los antecedentes familiares destaca que su padre había presentado dolores frecuentes en las piernas con calambres y dificultad para caminar sin un patrón específico, un hermano con patología dolorosa de extremidades inferiores con diagnóstico de enfermedad articular inespecífica. En la exploración neurológica se observó amiotrofia de musculatura de antebrazo e interóseos de las manos, con atrofia del grupo antero-lateral de las piernas y pie cavo. Abundantes fasciculaciones en extremidades superiores e inferiores con debilidad de predominio distal en extremidades superiores e inferiores asimétrica de predominio derecho

(flexión de la cadera 4/5, flexión dorsal de los pies 3/5, flexión plantar 4/5). Arreflexia en extremidades inferiores. Hipoestesia táctil y algésica hasta tercio medio de antebrazos y piernas. Leve temblor distal postural y cinético. Marcha dificultosa con un CMTES de 10. La ENMG evidenció una polineuropatía sensitivomotora axonal con abundante actividad espontánea en la EMG de aguja y un trazado neurogénico. El estudio molecular descartó duplicaciones en la región *PMP22*. Un panel de 11 genes (*PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *EGR2*, *GDAP1*, *LITAF*, *NEFL*, *MFN2*, *HSPB1*, *HSPB8* y *RAB7*) identificó una nueva variante en el gen *GJB1* no reportada previamente sin aparente correlación clínica. Finalmente, un estudio molecular con un panel amplio de CMT permitió identificar la variante patogénica c.466delC que sí se correlacionaba con el cuadro clínico.

FIGURA 43. CMT2T (MME): ÁRBOL GENEALÓGICO F101

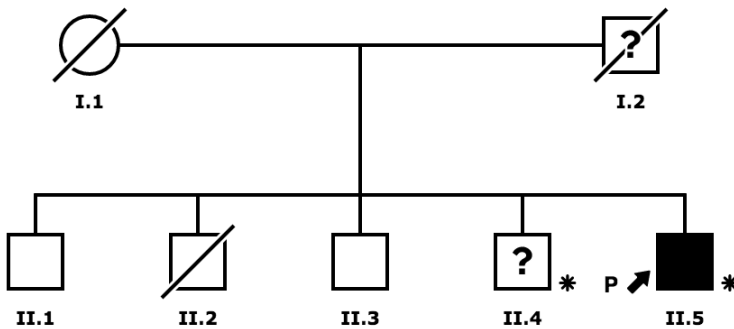


TABLA 53. CMT2T (MME): HALLAZGOS ENMG F94, F101

	MEDIANO			CUBITAL			PERONEAL			TIBIAL		
	CMAP (mV)	LD (ms)	VNCM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)	CMAP (mV)	LD (ms)	VCNM (m/s)
II.1 (F94)	6.5	3.5	45	9.0	2.6	48	NR	NR	NR	0.4	7.0	29
II.5 (F101)	4.5	3.5	45	2.4	3.3	47	NR	NR	NR	NR	NR	NR

CONDUCCIÓN SENSITIVA	MEDIANO		CUBITAL		SURAL	
	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)	AMPLITUD (μV)	VCNS (m/s)
II.1 (F94)	13.0	45	10.0	42	5.0	42
II.5 (F101)	19.0	51	20.0	46	NR	NR

En el año 2018 realizamos un estudio nacional multicéntrico, cuyo objetivo fue caracterizar el fenotipo y patrón de herencia de los pacientes con CMT2T causados por mutaciones en el gen *MME*. El resultado de este estudio, en el cual colaboramos se puede consultar en el anexo II de esta tesis.

**Título:** “Characterising the phenotype and mode of inheritance of patients with inherited peripheral neuropathies carrying *MME* mutations”.

**Autores:** Lupo V, Frasquet M, Sánchez-Monteagudo A, Pelayo-Negro AL, **García-Sobrino T**, Sedano MJ, Pardo J, Misiego M, García-García J, Sobrido MJ, Martínez-Rubio MD, Chumillas MJ, Vélchez JJ, Vázquez-Costa JF, Espinós C, Sevilla T.

**Revista:** Journal of Medical Genetics 2018;55:814-823.

**DOI:** 10.1136/jmedgenet-2018-105650.

**PMID:** 30415211.

**ISSN:** 0022-2593.

**eISSN:** 1468-6244.

## 5.5 CMT LIGADO AL CROMOSOMA X

### 5.5.1 CMTX1: MUTACIONES EN EL GEN *GJB1*

CMTX1 fue la segunda causa de CMT en la población (9.2%) y una de las principales causas de CMT2. Las variantes en el gen *GJB1* se asociaron tanto con formas desmielinizantes (3.1%) como con formas axonales (26.3%). Encontramos tres VP asociadas a formas desmielinizantes, cinco VP y una VSD asociadas con formas axonales y una VP con un estudio ENMG no concluyente.

Localizamos tres familias con CMTX1 asociado a formas desmielinizantes. La edad de inicio de los síntomas fue de 26 (mín. 15 – máx. 38) años. La gravedad clínica fue moderada en tres casos y leve en un paciente. La VCNM de nervio mediano fue de 30 (mín. 27 – máx. 33) m/s.

Las variantes en el gen *GJB1* asociadas con formas axonales de CMT fueron una de las principales causas de CMT2. Los primeros síntomas referidos por los pacientes presentaron un amplio rango de edad desde los 5-34 años, con una gravedad clínica moderada. En un paciente el estudio ENMG no fue concluyente, en este caso la variante identificada fue p.M194I.

En global, observamos que los hombres con CMTX1 presentan signos y síntomas más graves que las mujeres. Estos hallazgos fueron confirmados al detectar una edad de comienzo de la enfermedad más precoz en los hombres (5 [mín.5-máx.15] años) frente a las mujeres (24 ^7-37] años), síntomas y signos más graves con una CMTES de

12.3±4.0 en hombres y 7.6±4.0 en mujeres; así como una VCNM de nervio mediano inferior en los hombres con velocidades de 27 (mín. 22-máx. 33) m/s que en las mujeres que presentaron una VCNM de 43 [35-49] m/s.

**TABLA 54. CMTX1 (GJB1): DATOS DEMOGRÁFICOS Y CLÍNICOS**

	CMTX1 Desmielinizante	CMTX1 Axonal
N (Familia)	4 (3 familias)	11 (5 familias)
Sexo	2 mujeres, 2 hombres	6 mujeres, 5 hombres
Edad (años)	41 [28-51]	55 [46-67]
Edad de inicio (años)	26 (mín. 15 - máx. 38)	5 [5-33]
Edad al diagnóstico (años)	26 [20-44]	45 [33-55]
CMTES	4 [3-8]	8 [7-12]
Gravedad clínica*	N=4	N=11
VCNM mediano (m/s)	30 (mín. 27 - máx. 33)	36 [25-47] m/s
Estudio molecular	R142Q, P70A, p.E186K	Y65C, R22X, p.P87S, p.P172H, c.259C>T, **C168C

\*Ver gráfica al inicio del capítulo

\*\*C168C: variante de significado desconocido.

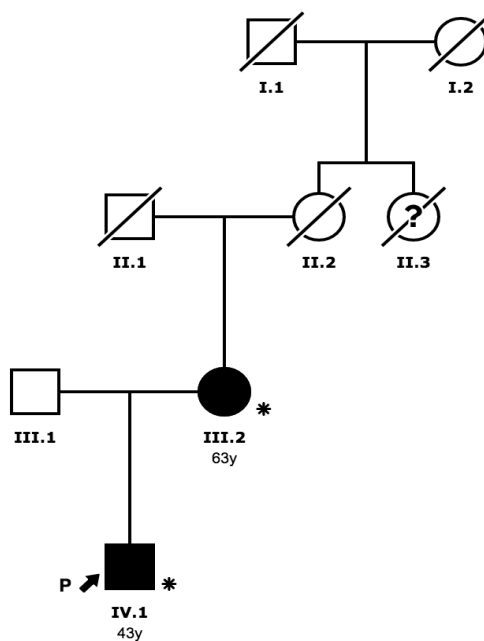
### **CMTX1: FAMILIAS RELEVANTES**

La variante p.P172H encontrada en CMTX1 (familia F112), en nuestro conocimiento no fue publicada en la literatura hasta el momento. El caso índice (IV.1), un varón de 42 años presenta síntomas y signos de CMT desde la primera infancia (5 años). En la exploración neurológica presenta pies cavos, amiotrofia distal en las piernas configurando patas de cigüeña, eminencia tenar y primer interóseo. Debilidad distal en las cuatro extremidades con arreflexia generalizada.

No disponemos del estudio ENMG realizado en la infancia. El estudio familiar, confirmó que su madre también presentaba signos y síntomas de una polineuropatía sensitivomotora desde la infancia. Mujer de 63 años (III.2) con parestesias y dificultad para deambular con caídas frecuentes desde la primera infancia. En la exploración neurológica presentaba pies cavos, dedos en martillo, patas de cigüeña, arreflexia generalizada con Babinski bilateral y dificultad para la marcha de talones; todo ello configuraba una gravedad clínica leve. El estudio ENMG fue compatible con una polineuropatía sensitiva y motora axonal con desmielinización asociada. El estudio genético confirmó tanto en la paciente como en su hijo la presencia de la variante NM\_000166.5:c.515C>A en heterocigosis en el gen *GJB1*. Esta variante estaba ausente en 264 individuos sin CMT, es una variante que se localiza en la misma posición aminoacídica que otras variantes patógenas identificadas en este gen (P172S, P172A, P172R) y además presenta correlación con el fenotipo clínico observado en esta familia.



FIGURA 44. CMTX1 (GJB1): ÁRBOL GENEALÓGICO F112



## 5.6 VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO

A continuación, realizaremos una breve descripción de las variantes de significado desconocido encontradas.

TABLA 55. VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO

Gen	Mutación	Herencia	Nº	Edad (años)	Edad inicio	Evolución (años)	CMTNS	VCNMM (m/s)	Fenotipo
<i>FBLN5</i>	Ile416Val	AD (no H-H)	2	56	45	11	8	50	Debilidad distal en EESS y EEII con dolor. Episodios de parálisis recurrentes e hipofonía fluctuante.
<i>GARS</i>	p.Arg337	Esporádico	1	48	5	43	8	49	Pie cavo desde la infancia con torpeza motriz. Debilidad distal en EEII con arreflexia aquilea. Hipopalestesia distal.
<i>GJB1</i>	C168C	Esporádico	1	48	32	16	-	49	Torpeza motriz desde la infancia. Debilidad distal en EEII con piramidismo. Hipoestesia en EEII. Atrofia peroneal. Desarrolla una enfermedad de NMT a los 43 años.
<i>LITAF</i>	IVS2 C>T	AD	2	42	5	37	-	> 38	Pie cavo, dedos en martillo, escoliosis grave. Debilidad e hipoestesia táctil distal en EEII. Arreflexia generalizada con RCP indiferente.
<i>MFN2</i>	F104	Esporádico	1	56	24	32	14	45	Dificultad para la marcha con inestabilidad. Acorchamiento en manos y pies. Hiperhidrosis. Debilidad distal EEII. Arreflexia
	G548E	Esporádico	1	52	10	42	6	54	Debilidad distal asimétrica con fasciculaciones en EEII. Arreflexia. Amiotrofia distal, pie cavo e hipopalestesia.
	V705I-E713del	AD (no H-H)	2	44	3	41	11	48,5	Debilidad distal en EEII sin síntomas sensitivos. Amiotrofia distal EESS y EEII.
<i>SH3TC2</i>	D1229V	Esporádico	1	31	27	4	5	38	Dolor lumbar irradiado. Parestesias distales en las cuatro extremidades
<i>TRPV4</i>	R460W	Esporádico	1	55	14	41	5	56	Deformidad de ambos pies desde la adolescencia. Calambres y alteración sensitiva en EEII desde la 4ª década. Debilidad dorsiflexión dedos ambos pies. Arreflexia aquilea. Hipopalestesia

# DISCUSIÓN





## 1 PREVALENCIA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-DEMOGRÁFICAS

El número de casos de CMT registrados en la Comunidad autónoma de Galicia, hace de este trabajo la segunda serie más amplia de CMT en España y la primera descripción de una población con CMT en el norte de España desde 1987 [240,241,259].

La prevalencia de CMT identificada en Galicia con 10 casos/100.000 habitantes es inferior a los 28 casos/100.000 habitantes publicada por Combarros en 1987 en Cantabria e inferior a los 30.8 casos/100.000 habitantes publicados recientemente por Lousa en la Isla de Gran Canaria, en cuyo estudio se han incluido además de CMT casos de NHPP. Sin embargo, la prevalencia identificada en Galicia está en línea con la prevalencia observada en otras series del Norte de Europa, como la serie publicada por Lefter en 2017 con una prevalencia de CMT de 10.5 casos/100.000 habitantes en Irlanda o la serie de Foley de 2012 con una prevalencia en Reino Unido de 11.8 casos/100.000 habitantes [245,253].

La baja prevalencia identificada en Galicia en comparación con la serie de Combarros, podría estar motivada por diversos factores. La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth es una enfermedad rara, hereditaria y de curso lentamente progresivo lo que causa que muchos casos no se diagnostiquen. Debido a la heterogeneidad y evolución natural de la enfermedad, en diversas ocasiones los pacientes con CMT

no consultan a su médico o lo hacen transcurridos varios años desde el inicio de los síntomas, como demuestra el haber identificado en nuestra serie un retraso en el diagnóstico de 10 [4-24] años. Además, al tratarse de una enfermedad crónica sin tratamiento farmacológico específico, los pacientes tienden al abandono en el seguimiento clínico de su enfermedad, lo cual dificulta realizar un registro adecuado de estos pacientes. Otro factor que podría influir en la prevalencia identificada, es que este estudio fue promovido desde el Hospital Clínico de Santiago de Compostela, con la colaboración del resto de neurólogos de Galicia, lo que implica la necesidad de comunicar los casos de CMT identificados, sin existir previamente un registro oficial de pacientes.

Durante el desarrollo del presente trabajo se intentó recoger la mayor cantidad de información clínica y genealógica posible, aunque no siempre resultó sencillo. Como mencionamos, muchos casos fueron remitidos desde otros hospitales de Galicia, por lo que no siempre disponíamos de toda la información solicitada. La anamnesis a los pacientes permitió completar esta información; sin embargo, al tratarse de un estudio retrospectivo conlleva un sesgo de memoria que limita la obtención de información completa e interfiere en la obtención de árboles genealógicos extensos. A pesar de ello, logramos información detallada del 88% de la muestra. Clásicamente, el debut de la enfermedad tiene lugar durante las dos primeras décadas de la vida. Sin embargo, la edad de inicio observada es de 20 [7-40] años, ligeramente superior a la esperada. Esto podría ser debido al diseño retrospectivo de este trabajo, donde en un 26% de los casos de CMT

no recuerdan la edad de inicio de la enfermedad.

Los datos demográficos, información clínica y estudio neurofisiológico confirma una vez más la variabilidad fenotípica intra e interfamiliar observada en CMT. La frecuencia de formas desmielinizantes (61%), axonales (34.5%) e intermedias (2.5%) se encuentra en concordancia con otras series de CMT. El patrón de herencia tampoco difiere de otras series Europeas, observando un predominio de casos con herencia autosómica dominante (58%). Los casos con herencia AR (5.6%) aunque inferior al 11.6% encontrado por Sivera, está en línea con lo publicado hasta el momento en el resto de Europa donde la frecuencia de formas recesivas se encuentra por debajo del 10% de los casos. El porcentaje de casos esporádicos (29.7%) identificados es discretamente superior al 21% obtenido por Sivera en 2013, lo cual podría deberse a un sesgo de identificación e interpretación de los casos, donde es posible que algunos casos identificados como esporádicos realmente presenten una herencia AR. Considerando las formas AR y casos esporádicos en conjunto, representan el 35% de nuestra serie.

La caracterización fenotípica y molecular nos va a permitir avanzar en el diagnóstico de un mayor número de casos de CMT, identificar población en riesgo de desarrollar la enfermedad y proporcionar consejo genético lo más detallado posible. Además, en el momento actual, con el avance de la terapia génica como objetivo terapéutico, debemos identificar al mayor número de pacientes candidatos que puedan beneficiarse, en un futuro, de posibles dianas terapéuticas.

## 2 ESTUDIO MOLECULAR

En el momento actual, con la disponibilidad de las tecnologías de secuenciación masiva, realizar una adecuada caracterización fenotípica y neurofisiológica de CMT es fundamental. El diagnóstico molecular debe orientarse en función del fenotipo clínico y el estudio neurofisiológico, lo cual nos va a permitir realizar una adecuada interpretación de las variantes identificadas.

El estudio molecular permitió tipificar genéticamente a un 74.5% (N=173/232) de los casos de CMT, con un índice de casos confirmados genéticamente superior en las formas desmielinizantes (93%) en comparación con las formas axonales (47.5%). A pesar de haber identificado genéticamente un elevado porcentaje de casos con CMT2, todavía hay un 52.5% de CMT2 sin diagnóstico molecular. La distribución genética descrita muestra un patrón homogéneo en CMT1 comparable con otras series, sin embargo, en CMT2 observamos un amplio abanico de genes y variantes identificadas con un elevado número de variantes de significado desconocido. Esta heterogeneidad genética podría explicar el menor rendimiento diagnóstico que observamos en CMT2. En el 85% de los casos de CMT encontramos una variante en *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*, *MFN2* o *GDAP1*. Estos datos no difieren de otras series publicadas en Europa [23,147,243,249,250]. En el 10% restante identificamos variantes en los genes *HK1*, *EGR2* y



*BSCL2*. Destacamos en esta serie el número de casos con variantes en los genes *EGR2* (2.9%) y *BSCL2* (2.9%), con una frecuencia en otras series <1%. Esto podría estar en relación con el desarrollo de sendos proyectos de investigación tanto en CMT como en paraparesia espástica, realizados en la unidad de enfermedades neuromusculares y por el grupo de estudio de Neurogenética de la FPGMX, lo cual podría tener un efecto llamada y aumento en el rendimiento del diagnóstico molecular.

La evolución del diagnóstico molecular en Galicia muestra un crecimiento progresivo a partir del año 2006, con un elevado número de casos y familias confirmadas genéticamente en 2006 (N=6 casos, 4 familias) y 2010 (N=25 casos, 9 familias). Este hecho se explica porque a partir del año 2005 y hasta 2010, la inmensa mayoría de CMT en Galicia que no eran portadores de la duplicación en *PMP22*, se diagnosticaron mediante un panel de 8 genes creado mediante un proyecto de investigación. Tras la implementación de las técnicas de nueva secuenciación, con un panel de 14 genes desde 2014 hasta 2016 y con un panel de 37 genes hasta 2018, observamos un nuevo incremento en el número de casos confirmados genéticamente. Podemos afirmar que el rendimiento del diagnóstico molecular de CMT aumenta considerablemente con las técnicas de nueva secuenciación.

La duplicación en *PMP22* responsable de CMT1A es la forma más frecuente de CMT (57.2% de los casos genéticamente confirmados), representando un 75.5% de todos los casos de CMT1 confirmados genéticamente, ligeramente superior al 70% publicado previamente. Las

variantes en *GJBI* (CMTX1) son la segunda causa de CMT (9.2%) tras CMT1A. Estos pacientes se clasificaron en casos desmielinizantes (N=4) o axonales (N=11) en función del ENMG del caso propósito en la familia. Un porcentaje ligeramente inferior al identificado en otras series y en línea con la población de CMT descrita al sur de Italia [23,147,153,250]. La heterogeneidad clínica que presenta este gen en función del sexo del paciente junto con el infradiagnóstico de CMT puede ser una de las causas de esta menor frecuencia de mutaciones en el gen *GJBI* en Galicia. La tercera causa de CMT son las variantes en *MPZ* (6.9%) acorde con los datos ofrecidos por otras series en España y en el resto de Europa; responsable de la segunda causa de CMT1 (9% CMT1B). Identificamos 12 casos con CMT2 portadores de una variante en *MPZ* no descrita en la literatura y con elevada probabilidad de ser la responsable de CMT2I en estos casos.

CMT desmielinizante de herencia AR (CMT4) representan un 4.6% (N=8/173) de toda la serie. Identificamos un 2.9% de casos con CMT4G (*HK1*) y ningún caso con variantes en el gen *NDRG1* (CMT4D) más frecuente en la Comunidad Valenciana. Las variantes en *SH3TC2* (CMT4C) representaron un 1.2% del total de casos; un porcentaje inferior al que encontró Sivera (7.2%) o Lorefice (4.4%). Estos hallazgos podrían explicarse por el flujo migratorio de la propia comunidad romaní en España; siendo Galicia junto con el País vasco y Asturias, las comunidades donde menor población de etnia gitana está instaurada. En la población con CMT1 además identificamos variantes

en *NEFL* y *LITAF*. No encontramos variantes en los genes *FGD4*, *FIG4*, *PRX*.

Las formas axonales de CMT presentan una amplia heterogeneidad genética. Identificamos 22 variantes en 12 genes, de las cuales 14 variantes en 6 genes son patogénicas, una variante en el gen *MORC2* con resultados de patogenicidad no concluyentes y el resto son variantes de significado desconocido. El rendimiento diagnóstico de las formas axonales (47.5%) es inferior al descrito por Sivera, sin embargo, es ligeramente superior al descrito en el resto de Europa. Esto podría deberse a la implicación en el diagnóstico molecular de los pacientes adultos con CMT en Galicia, primero durante el desarrollo de los proyectos de investigación mencionados previamente y en segundo lugar gracias a la colaboración en proyectos de investigación realizados a nivel nacional. La distribución genética de CMT2 muestra que las causas más frecuentes de CMT axonal en Galicia son *MFN2*, *GDAP1* y *GJB1* en igual frecuencia, responsables del 79% de los casos. En cuarto lugar, se encuentra la variante Ser90Leu en el gen *BSCL2* responsable de paraparesia espástica/Síndrome Silver/CMT2 (12.8%). Mutaciones en el gen *MME*, recientemente descrito como causante de CMT2T, son responsables del 5.2% de CMT2. Las mutaciones en el gen de la metalloendopeptidasa son la causa más frecuente de CMT2 de inicio tardío; por lo que, sería necesario realizar un cribado en nuestra población con CMT2 de inicio tardío sin diagnóstico molecular que permitiese la identificación de nuevos casos de CMT2T. El gen de la *MFN2* presenta un amplio abanico de variantes, con un alto porcentaje

de polimorfismos, tal como se conoce en la literatura, resultando ser la causa de CMT2A en el 26.3% de los casos estudiados. Si lo comparamos con la literatura disponible hasta el momento, observamos resultados dispares. En regiones del Mediterráneo, observamos una baja incidencia de CMT2A, pero un elevado número de casos de CMT2K (*GDAP1*); sin embargo, en otras regiones de España, Alemania o USA podemos observar una frecuencia más elevada de casos debidos a mutaciones en *MFN2* [66,153,243,249]. En segundo y tercer lugar, con la misma frecuencia, se encuentran mutaciones en *GDAP1* y *GJB1*. La variante identificada en el gen *GDAP1* presente en dos familias no consanguíneas no se había dado a conocer hasta el año 2017. El estudio de haplotipos identificó un efecto fundador de la misma, lo que podría explicar la elevada frecuencia de esta mutación en nuestra población. Otras variantes identificadas en CMT2 se detectaron en *FBLN5*, *GARS*, *TRPV4* y *MTMR* sin correlación clínica, por lo que se mantienen como variantes de significado desconocido, no patogénicas. Identificamos una variante de significado desconocido en *MPZ* que se detallará en el capítulo 3. No encontramos variantes en *HSPB1*, *HSPB8*, *AARS*, *YARS*, *KARS*, *RAB7*. Las formas intermedias de CMT, con una VCNM entre 25-45 m/s son poco frecuentes en nuestra población. El rendimiento diagnóstico fue bajo, detectando dos casos con mutaciones puntuales en el gen *PMP22*, quedando un 60% sin diagnóstico molecular. No detectamos mutaciones en *DNM2*, *YARS*, *INF*, *GNB4*, *NEFL*, *AARS*, *KARS*, *PLEKHG5*, *DCTN2*, *COX6M* [25].

### 3 RELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

Realizamos una descripción detallada de las principales variantes identificadas en la población adulta con CMT en Galicia. La duplicación en la región *PMP22* responsable de CMT1A es la forma más frecuente de CMT (57%) y la más frecuente de las formas desmielinizantes (75.6%). Los síntomas de la enfermedad debutan a lo largo de la primera infancia, provocando una neuropatía con una gravedad heterogénea intra e interfamiliar. El estudio neurofisiológico muestra una VCNM en nervio mediano muy enlentecida (20 [15-23] m/s).

La región p11.2-p12 en el cromosoma 17 es una zona que contiene una gran cantidad de genes, compuesta por dos dominios genéticamente inestables (la región 17p11.2 y la región 17p12). La duplicación de la región 17p12 es la responsable de CMT1A, mientras que una delección en esta región provoca una neuropatía tomacular o neuropatía con susceptibilidad a las parálisis por presión. Además, en esta región también pueden tener lugar microduplicaciones o microdeleciones que abarcan más de un gen, lo que puede dar lugar a diferentes síndromes (síndrome de Yuan-Harel-Lupski en el cual la microduplicación contiene los genes *RAI1* y *PMP22*, el síndrome Potocki-Lupski donde la microduplicación incluye el gen *RAI1* o el síndrome de Smith-Magenis que consiste en una microdelección de esta región).

Identificamos un caso portador de una microduplicación en la región 17p12 cursando con un fenotipo CMT1A y retraso global del desarrollo. Los genes incluidos en esta microduplicación (*PMP22*, *COX10*, *HS3ST3B1*, *TEK3*) no nos permiten confirmar que se trate de ninguno de los síndromes mencionados anteriormente; pero sí parecen estar modificando el fenotipo clásico de CMT que presenta el paciente. El estudio genealógico confirmó la presencia de una duplicación en *PMP22* responsable de CMT1A en la familia.

Las dos mutaciones puntuales en el gen *PMP22* muestran un fenotipo leve-moderado con una VCNM de nervio mediano en rango intermedio. La variante NM\_000304.3:c.392C>G; NP\_000295.1:p.Ser131Cys [168], presenta un fenotipo concordante con el descrito previamente en la literatura. A pesar de la ausencia de familiares que nos permitan confirmar la segregación familiar de esta variante, el hecho de no haberla encontrado en la población de control y objetivar concordancia clínica con casos previos, consideramos que se trata de una variante probablemente patogénica responsable del cuadro clínico. La variante R157W, en nuestro conocimiento, no se ha publicado hasta el momento. Consideramos esta variante posiblemente patogénica al presentar concordancia clínica con mutaciones puntuales en *PMP22* descritas previamente y ausencia de la misma en la población sana de control. En este momento, se está llevando a cabo el estudio de segregación familiar.

CMTX es la segunda causa de CMT en Galicia (9.2%). Las variantes identificadas en este gen se asocian tanto con formas

desmielinizantes (3.1% de CMT1) como axonales de CMT (26.3% de CMT2). En este caso, observamos que las formas axonales de CMTX muestran una edad de inicio más precoz y una mayor gravedad clínica. Las mujeres portadoras de CMTX al igual que se ha descrito previamente en la literatura muestran un fenotipo más leve de la enfermedad, con una edad de inicio más tardía. Con el avance del diagnóstico molecular observamos un incremento en el número de genes que pueden asociarse con más de un fenotipo (*CHCHD10*, *BSCL2*, *HSPB1*, *HSPB8*) [260–262]. Marchesi en el año 2011 publicó un caso de CMTX por mutaciones en la conexina 32 en un paciente que asociaba una enfermedad de neurona motora, sin embargo, no pudo determinarse con exactitud una relación de causalidad. La variante C168C identificada en el presente trabajo en una paciente con CMT con signos piramidales y solapamiento con una enfermedad de neurona motora, no nos permite confirmar el diagnóstico de CMTX. Esta variante a pesar de presentar una baja prevalencia en la población control sin CMT, no conlleva ningún cambio aminoacídico a nivel proteico, por lo que consideramos que se trata de un polimorfismo y no es la responsable de la enfermedad [263].

CMT1B causado por mutaciones en el gen *MPZ* es la tercera causa de CMT en Galicia (6.9%) y la segunda causa más frecuente de CMT1 (9%). Las variantes identificadas en *MPZ* presentan una neuropatía leve con un fenotipo clásico de CMT. La variante R98H identificada en Galicia no muestra asimetrías destacables, sin embargo sí observamos anticipación familiar como se describió en otros casos de la literatura

[170,264,265]. Las variantes en *MPZ* asociadas a formas axonales, muestran un comienzo en la edad adulta con fenotipos leves frecuentemente. Identificamos una variante no descrita previamente (p.V150L) en la cual el cuadro clínico de debut fue un síndrome polineuropático en una proporción de familiares afectados y por otro lado un cuadro de dolor neuropático en el resto de familiares. La exploración neurológica y ENMG revelaron que todos los portadores de la variante p.V150L mostraban síntomas y signos de una polineuropatía leve. Esta variante no se encontró en ninguno de los familiares asintomáticos ni tampoco en la población sin CMT lo cual indica su baja frecuencia. Por todo ello, concluimos que la variante p.V150L en el gen *MPZ* es con alta probabilidad la responsable de CMT2I en esta familia.

CMT2A debido a mutaciones en el gen *MFN2* fue una de las principales causas de CMT2 en Galicia (26.3%), junto con CMTX1 por mutaciones en *GJBI*(26.3%) y mutaciones AD en *GDAP1* responsables de CMT2K (26.3%). De forma global, las mutaciones en *MFN2* representan la cuarta posición etiológica de CMT en Galicia (5.8%). El fenotipo de CMT2A no difiere del encontrado en la literatura [66]. Identificamos un caso con dos variantes de significado desconocido en *MFN2* (E713del-V705I) con un solapamiento clínico entre un CMT2 y una neuropatía motora hereditaria. Clínicamente el fenotipo predominante es de una neuropatía motora hereditaria, sin embargo el estudio histológico demuestra la presencia de un daño sensitivo [202,203,266]. En este caso, se identificaron dos variantes, E713del en el exón 18 la cual produce una pérdida de aminoácidos en las



posiciones 710 a 713 de la proteína. Esta variante no fue publicada previamente ni tampoco se identificó en las bases de datos clínicas ni en la población sin CMT. El estudio genealógico confirmó la segregación de esta variante en la familia. En este caso, la segunda variante detectada (V705I) tampoco parece patogénica al no mostrar segregación familiar, por lo que la consideramos un polimorfismo [267].

CMT2K causado por mutaciones de herencia AD en el gen *GDAP1* es una causa poco frecuente de CMT en diversas series publicadas, mientras que en otras series es una de las principales causas de CMT2 [23,68,147,153,243]. En Galicia identificamos un elevado porcentaje de casos de CMT2K (5.8%), resultando ser una de las principales causas de CMT2 (26%) junto con *MFN2* y *GJB1*. La variante identificada p.R226del, no había sido publicada hasta el año 2017 cuando realizamos la descripción de las primeras familias en Galicia con CMT2K. En las dos familias identificadas observamos heterogeneidad clínica probablemente debido a factores epigenéticos modificadores del fenotipo. El estudio de haplotipos en las dos familias portadoras de dicha variante nos permite concluir que probablemente se trata de una mutación fundadora en Galicia.

CMT1D debido a mutaciones en el gen *EGR2* se describe en la literatura como una causa poco frecuente de CMT en la población con una frecuencia <1%. En Galicia, mutaciones en el gen *EGR2* representan el 2.9% de CMT y un 3.8% de CMT1. No observamos ningún caso asociado con CMT2. En las dos familias identificadas, la

enfermedad comienza en la edad adulta, provocando una neuropatía leve. En este caso destacamos la asociación de CMT con neuropatías inflamatorias como la CIDP, identificada en una paciente. Aunque no son frecuentes, podemos observar bloqueos de conducción nerviosa en CMT1B (*MPZ*) o en CMTX, así como bloqueos y dispersión temporal en CMT4J (*FIG4*). En la literatura, se describen diversas asociaciones de CMT con neuropatías inflamatorias (CMT1A, CMT1B, CMT4C, CMT1D) [268,269]. Aquellos casos con un deterioro clínico subagudo o afectación de cintura escapular o pélvica deben alertarnos sobre la posible asociación de una neuropatía hereditaria y una neuropatía inflamatoria. Además, en casos con una respuesta parcial al tratamiento, deformidades esqueléticas asociadas o antecedentes familiares deben hacernos sospechar una base genética. En nuestra serie, detectamos dos casos de CMT en asociación con CIDP (CMT1D y CMT1A), en ambos casos el dato de alerta fue el rápido deterioro clínico de un trastorno de la marcha subyacente lo que nos permitió sospechar una CIDP y la presencia de deformidades esqueléticas y antecedentes familiares en la anamnesis dirigida lo que nos llevó al diagnóstico de una neuropatía de base genética subyacente.

Mutaciones en el gen *BSCL2* son una causa poco frecuente de CMT, asociado más frecuentemente con neuropatía motora hereditaria distal (dHMN tipo V) o con cuadros de paraparesia espástica (SPG17). La variante S90L representa el 2.9% de CMT y un 12.8% de CMT2 en Galicia. La variante N88S es la que más frecuentemente se asocia a CMT con piramidalismo y/o afectación de musculatura intrínseca de las

manos, mientras S90L se asocia con cuadros de espasticidad. En este caso, destacamos la variabilidad clínica intrafamiliar donde observamos un fenotipo CMT con piramidalismo y un segundo fenotipo donde predomina la espasticidad con afectación de musculatura intrínseca de las manos, asociados ambos a una misma variante (S90L) [231,237].

Las mutaciones fundadoras de CMT en población de etnia romaní se limitan a unos pocos genes (*HK1*, *NDRG1*, *SH3TC2*). En Galicia la única mutación identificada en población de etnia romaní se localizó en el gen *HK1* (2.9% de CMT, 3.8% de CMT desmielinizante). No identificamos variantes en *NDRG1* ni en *SH3TC2* de etnia romaní. Este hecho posiblemente esté muy en relación con la migración de esta población en el territorio español.

Las formas axonales de CMT, muestran una importante heterogeneidad clínica y molecular. En Galicia, identificamos dos casos con la variante c.466delC en el gen *MME* tras su descripción en 2016 en pacientes con CMT de comienzo en la edad adulta. Las variantes identificadas en el gen *MME* son diversas [110]. En Galicia, encontramos dos familias con la variante p.Pro156Leufs\*14 (c.466delC). En la literatura la variante c.466delC se asocia con CMT2 de herencia AD de penetrancia incompleta. Sin embargo, en este momento, la información clínica, ENMG y molecular de nuestra familia no nos permite confirmar una herencia AD, por lo que será necesario ampliar el estudio en otros miembros de esta familia. En la primera familia identificada (F94) portadora de la variante en el gen *MME* el probando con una neuropatía moderada es homocigoto para la variante

c.466delC, mientras que ninguno de sus familiares portadores heterocigotos muestra signos clínicos y/o ENG de polineuropatía. En la familia F101 en la cual también identificamos la variante c.466delC, no disponemos de estudio de segregación familiar que nos permita confirmar el patrón de herencia, a priori, lo consideramos un caso esporádico. El estudio epidemiológico de las mutaciones en el gen *MME* en España, demuestra la diversidad mutacional encontrada en este gen a lo largo del territorio español [219]. La variante p.Pr156Leufs\*14 que conlleva una pérdida de función en la proteína, es la segunda mutación más frecuente en el gen *MME*. Por último, debemos considerar un CMT2T por mutaciones en el gen *MME* en pacientes con una neuropatía axonal de inicio en la edad adulta, con una clínica predominantemente motora de rápida progresión, asociada con calambres, fasciculaciones y signos de denervación aguda en el estudio de EMG de aguja.

La causa más frecuente de CMT2, en diversas series, son las variantes en el gen *MFN2* (CMT2A) y *GDAP1*. En los últimos años, entre las causas más frecuentes de CMT2 también se encuentran las mutaciones en el gen *MORC2* [19]. El gen *MORC2* pertenece a la familia de proteínas MORC. Estas proteínas están conformadas por una serie de dominios con funciones determinadas (dominio ATPasa, zona N-terminal, dominio de interacción con el DNA y diversos dominios de tipo hélice enrollada). Las mutaciones que afectan al dominio ATPasa pueden provocar una pérdida completa de la actividad de dicha ATPasa o simplemente causar una reducción de su actividad. La variante

encontrada en la familia F129 (p.Ala152Pro) se localiza en el exón 8, formando parte de los exones codificantes del dominio ATPasa. En nuestro conocimiento, hasta el momento, esta variante no se describió previamente ni tampoco se encontró en las diferentes bases de datos consultadas, con un nivel de patogenicidad según los algoritmos de predicción, considerándola una variante de significado desconocido y/o patogénica. El fenotipo clínico en el caso índice es de una polineuropatía sensitiva y motora de inicio probablemente infantil, pero sin progresión clínica hasta la edad adulta, de intensidad moderada. Esto difiere de los casos más graves e incluso formas congénitas de CMT asociados a mutaciones en el gen *MORC2* identificados hasta el momento [134]. Este fenotipo más leve podría ser debido a que la variante identificada conlleve una reducción parcial de la actividad ATPasa, manteniendo una actividad residual. Serían necesarios más estudios que nos permitan confirmar esta hipótesis, pues en este caso el estudio de segregación familiar no es posible. Hasta el momento, las variantes en *MFN2*, *GDAP1* y *GJB1* son la causa principal de CMT2 en Galicia.

## 4 ALGORITMOS DIAGNÓSTICO

El abordaje de CMT debe iniciarse mediante una anamnesis, exploración física y estudio ENMG detallados que nos permita establecer un fenotipo de CMT. A continuación, en base a los hallazgos identificados, podemos plantear el diagnóstico molecular. En el momento actual, con el avance de las técnicas de NGS, para realizar el estudio genético proponemos los siguientes algoritmos:

FIGURA 45. ALGORITMO DIAGNÓSTICO CMT DESMIELINIZANTE

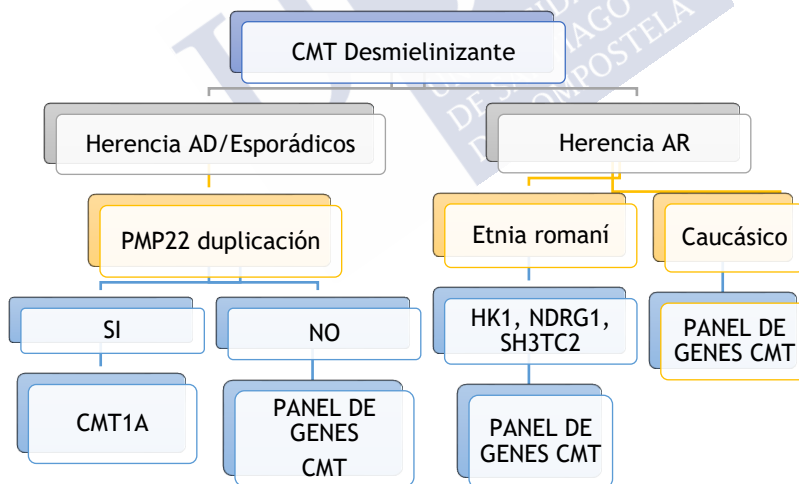


FIGURA 46. ALGORITMO DIAGNÓSTICO CMT AXONAL

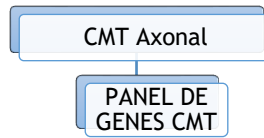
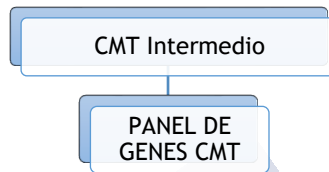


FIGURA 47. ALGORITMO DIAGNÓSTICO CMT INTERMEDIO



En la actualidad, en nuestro medio, con el advenimiento de las nuevas técnicas de secuenciación, proponemos la siguiente aproximación al diagnóstico molecular:

- I. El estudio de un paciente con CMT debe comenzar por una adecuada evaluación clínica, patrón de herencia y estudio ENMG. A partir de estos datos, considerados básicos, podemos orientar el diagnóstico molecular.
- II. En los pacientes con CMT desmielinizante de herencia AD o casos esporádicos (CMT1), es obligado descartar la duplicación en el gen *PMP22* causante de CMT1A. Si este estudio resulta negativo, aconsejamos realizar un estudio mediante panel de genes de CMT.
- III. En los casos de CMT desmielinizante de herencia AR (CMT4), lo primero que debemos valorar es la etnia de los pacientes. En CMT4 de etnia romaní se recomienda descartar mutaciones en los genes *HK1*, *NDRG1* y *SH3TC2*. En los demás casos o en casos de

etnia gitana sin mutaciones en estos genes, recomendamos realizar estudio mediante panel de genes de CMT.

- IV. En CMT axonal de herencia AD o AR recomendamos realizar un panel de genes de CMT.
- V. En CMT intermedio, recomendamos realizar un panel de genes de CMT.

Actualmente, el panel de genes de CMT disponible en la Fundación Pública de Medicina Xenómica, incluye el estudio de los siguientes genes: *AAAS, AARS1, ABCA1, ABCD1, ABHD12, AIFM1, ALS2, AMACR, AMN, APTX, ARHGEF10, ASAH1, ATLI, ATL3, ATP7A, ATP7B, BICD2, BSCL2, C12orf65, CCT5, CHCHD10, COX6A1, CYP27A1, DCTN1, DHTKD1, DMD, DNAJB2, DNM2, DNMT1, DST, DYNC1H1, EGR2, ELP1, FAM126A, FBLN5, FBXO38, FGD4, FIG4, FLVCR1, FXN, GAN, GARS1, GBE1, GDAP1, GJB1, GJB3, GLA, GNB4, GSN, HADHA, HADHB, HARS1, HEXA, HEXB, HINT1, HK1, HSPB1, HSPB3, HSPB8, IGHMBP2, INF2, KARS1, KIF1A, KIF1B, KIF5A, LICAM, LAMA2, LITAF, LMNA, LRSAM1, MARS1, MATR3, MCM3AP, MED25, MFN2, MME, MORC2, MPV17, MPZ, MTMR2, MTPP, NDRG1, NEFH, NEFL, NGF, NIPA1, NTRK1, OPA1, PDK3, PEX12, PHYH, PLA2G6, PLEKHG5, PLP1, PMP22, PNKP, POLG, PRDM12, PRPS1, PRX, RAB7A, REEP1, RETREG1, SACS, SBF1, SBF2, SCN10A, SCN11A, SCN9A, SEPTIN9, SETX, SH3TC2, SIGMAR1, SLC12A6, SLC52A2, SLC5A7, SOX10, SPAST, SPG11, SPTLC1, SPTLC2, SURF1, TFG, TPPI1, TRIM2, TRPA1, TRPV4, TTR, TWNK, TYMP, UBA1, VAPB, VCP, VRK1, WNK1, YARS1, ZFYVE26.*



## 5 FORTALEZAS Y LIMITACIONES

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth es la causa más frecuente de neuropatía hereditaria. El diagnóstico molecular con más de 80 genes asociados a la enfermedad, resulta cada vez más complejo.

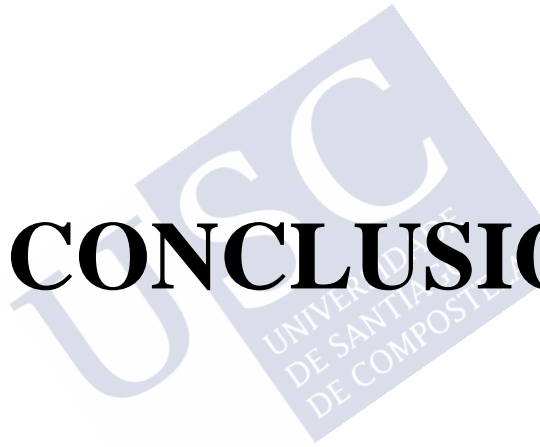
Este es el estudio descriptivo más amplio, hasta el momento, de la frecuencia y distribución mutacional de CMT en Galicia y el primero en el Norte de España desde 1987.

Una de las principales ventajas de este estudio es la realización previa de sendos proyectos de investigación de CMT en Galicia, lo que permitió mejorar el conocimiento de la enfermedad en nuestro medio.

La principal limitación que encontramos de este estudio es que se trata de un estudio descriptivo retrospectivo. Asumimos que existe una pérdida de casos o sesgo de memoria que dificulta obtener toda la información de forma precisa.



# CONCLUSIONES





## CONCLUSIONES

1. La prevalencia de CMT en la Comunidad Autónoma de Galicia a día 31 de diciembre de 2018 fue de 10 casos /100.000 habitantes, con una mayor prevalencia de CMT desmielinizante.
2. El patrón de herencia más frecuente fue AD. Destacamos una alta frecuencia de casos esporádicos o con herencia AR en CMT2 (42.5%); por lo que la ausencia de antecedentes familiares de neuropatía no descarta una enfermedad de CMT.
3. Las formas más frecuentes de CMT en Galicia son: la duplicación en *PMP22* (CMT1A, 57%), mutaciones en *GJB1* (CMTX1, 9.2%), *MPZ* (CMT1B, 7%), *MFN2* (CMT2A, 6%) y *GDAP1* (CMT2K, 6%).
4. Los subtipos más frecuentes de CMT desmielinizante en Galicia son: CMT1A (75.5%), CMT1B (9.2%), CMT1D (4%), CMT4G (4%) y CMTX1 (3%). Mutaciones en el gen *HK1* son la única causa de CMT4 en población de etnia gitana em Galicia (CMT4G o neuropatía de Russe).
5. Las formas más frecuentes de CMT axonal en Galicia son: CMT2A (26%), CMT2K (26%), CMTX1 (26%), CMT2D

(variante S90L en el gen *BSCL2* con fenotipos solapados) (12.8%) y CMT2T (5.3%).

6. Los algoritmos de diagnóstico propuestos son una herramienta de apoyo al diagnóstico de CMT en Galicia. Una evaluación clínica detallada, patrón de herencia y estudio ENMG protocolizados deben guiar el diagnóstico del paciente con CMT.





# **BIBLIOGRAFIA**





## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Sherman DL, Brophy PJ. Mechanisms of axon ensheathment and myelin growth. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:683–90.
- [2] Poliak S, Peles E. The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nat Rev Neurosci* 2003;4:968–80.
- [3] King R. Microscopic anatomy: normal structure. *Handb. Clin. Neurol* 2013;115:7–27.
- [4] Jerath NU, Shy ME. Hereditary motor and sensory neuropathies: Understanding molecular pathogenesis could lead to future treatment strategies. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis* 2015;1852:667–78.
- [5] Reilly MM. Sorting out the inherited neuropathies. *Pract Neurol* 2007;7:93-105.
- [6] Pardo J, Gutierrez-Rivas E, Guijarro M. Polineuropatías. En: Pascual Gómez J, Tratado de neurología. Ed: Luzán. Madrid; 2012:1315-17.
- [7] Rabasa Perez M. Neuropatías: introducción y clasificación. En: Gutiérrez-Rivas E. Manual de enfermedades neuromusculares. Ed. Ergón. Majadahonda, Madrid; 2017:207-214.
- [8] Russell JA. General Approach to Peripheral Nerve Disorders: Contin Lifelong Learn *Neurol* 2017;23:1241–62..
- [9] Berciano J, Sevilla T, Casanovas C, Sivera R, Vílchez JJ, Infante J, et al. Guía diagnóstica en el paciente con enfermedad de Charcot-Marie-Tooth. *Neurología* 2012;27:169–78.

- [10] Juárez P, Palau F. Neural and Molecular Features on Charcot-Marie-Tooth Disease Plasticity and Therapy. *Neural Plast* 2012;2012:1–11.
- [11] Weis J, Claeys KG, Roos A, Azzedine H, Katona I, Schröder JM, et al. Towards a functional pathology of hereditary neuropathies. *Acta Neuropathol* 2017;133:493–515.
- [12] Rossor AM, Evans MRB, Reilly MM. A practical approach to the genetic neuropathies. *Pract Neurol* 2015;15:187–98.
- [13] Rossor AM, Carr AS, Devine H, Chandrashekar H, Pelayo-Negro AL, Pareyson D, et al. Peripheral neuropathy in complex inherited diseases: an approach to diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017;88:846–63.
- [14] Kazamel M, Boes CJ. Charcot Marie Tooth disease (CMT): historical perspectives and evolution. *J Neurol* 2015;262:801–5.
- [15] Dyck PJ, Lambert EH. Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy II. Neurologic, genetic, and electrophysiologic findings in various neuronal degenerations. *Arch Neurol* 1968;18:619–25.
- [16] Harding AE, Thomas PK. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. *Brain* 1980;103:259–80.
- [17] Bird TD, Ott J, Giblett ER. Evidence for Linkage of Charcot-Marie-Tooth Neuropathy to the Duffy Locus on Chromosome 1. *Am J Human Gent* 1982;34:388-394.
- [18] Harding AE. Molecular genetics of peripheral neuropathies. *Baillieres Clin Neurol* 1995;4:383–400.
- [19] Pareyson D, Saveri P, Pisciotta C. New developments in Charcot–Marie–Tooth neuropathy and related diseases: *Curr Opin Neurol* 2017;30:471–80.

- [20] Pipis M, Rossor AM, Laura M, Reilly MM. Next-generation sequencing in Charcot–Marie–Tooth disease: opportunities and challenges. *Nat Rev Neurol* 2019;15:644–56.
- [21] Krajewski KM, Lewis RA, Fuerst DR, Turansky C, Hinderer SR, Garbern J, et al. Neurological dysfunction and axonal degeneration in Charcot–Marie–Tooth disease type 1A. *Brain* 2000;123:1516–1527.
- [22] Pareyson D, Marchesi C. Diagnosis, natural history, and management of Charcot–Marie–Tooth disease. *Lancet Neurol* 2009;8:654–67.
- [23] Murphy SM, Laura M, Fawcett K, Pandraud A, Liu YT, Davidson GL, et al. Charcot–Marie–Tooth disease: frequency of genetic subtypes and guidelines for genetic testing. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012;83:706–10.
- [24] Reilly MM, Murphy SM, Laura M. Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst* 2011;16:1–14.
- [25] Berciano J, García A, Gallardo E, Peeters K, Pelayo-Negro AL, Álvarez-Paradelo S, et al. Intermediate Charcot–Marie–Tooth disease: an electrophysiological reappraisal and systematic review. *J Neurol* 2017;264:1655–77.
- [26] Niemann A, Berger P, Suter U. Pathomechanisms of mutant proteins in Charcot-Marie-Tooth disease. *NeuroMolecular Med* 2006;8:217–241.
- [27] Watila MM, Balarabe SA. Molecular and clinical features of inherited neuropathies due to *PMP22* duplication. *J Neurol Sci* 2015;355:18–24.
- [28] van Paassen BW, van der Kooi AJ, van Spaendonck-Zwarts KY, Verhamme C, Baas F, de Visser M. *PMP22* related neuropathies: Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:1–15.

- [29] Berger P, Niemann A, Suter U. Schwann cells and the pathogenesis of inherited motor and sensory neuropathies (Charcot-Marie-Tooth disease). *Glia* 2006;54:243–57.
- [30] Warner LE, Hilz MJ, Appel SH, Killian JM, Kolodny EH, Karpati G, et al. Clinical phenotypes of different *MPZ* (P0) mutations may include Charcot–Marie–Tooth Type 1B, Dejerine–Sottas, and Congenital Hypomyelination. *Neuron* 1996;17:451–60.
- [31] Marrosu MG, Vaccargiu S, Marrosu G, Vannelli A, Cianchetti C, Muntoni F. Charcot-Marie-Tooth disease type 2 associated with mutation of the myelin protein zero gene. *Neurology* 1998;50:1397–401.
- [32] Santoro L, Manganelli F, Maria ED, Bordo D, Cassandrini D, Ajmar F, et al. A novel mutation of myelin protein zero associated with an axonal form of Charcot–Marie–Tooth disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:262–265.
- [33] Zenker J, Stettner M, Ruskamo S, Domènech-Estévez E, Baloui H, Médard J-J, et al. A role of peripheral myelin protein 2 in lipid homeostasis of myelinating schwann cells: *Pmp2* Function in the PNS. *Glia* 2014;62:1502–12.
- [34] Motley WW, Palaima P, Yum SW, Gonzalez MA, Tao F, Wanschitz JV, et al. De novo *PMP2* mutations in families with type 1 Charcot–Marie–Tooth disease. *Brain* 2016;139:1649–56.
- [35] Stettner M, Zenker J, Klingler F, Szepanowski F, Hartung H-P, Mausberg AK, et al. The Role of Peripheral Myelin Protein 2 in Remyelination. *Cell Mol Neurobiol* 2018;38:487–96.
- [36] Marchesi C, Milani M, Morbin M, Cesani M, Lauria G, Scaioli V, et al. Four novel cases of periaxin-related neuropathy and review of the literature. *Neurology* 2010;75:1830–8.
- [37] Sherman DL, Fabrizi C, Gillespie CS, Brophy PJ. Specific Disruption of a Schwann Cell Dystrophin-Related Protein

- Complex in a Demyelinating Neuropathy. *Neuron* 2001;30:677–87.
- [38] Sherman DL, Wu LMN, Grove M, Gillespie CS, Brophy PJ. Drp2 and Periaxin Form Cajal Bands with Dystroglycan but have distinct roles in Schwann Cell growth. *J Neurosci* 2012;32:9419–28.
- [39] Brennan KM, Bai Y, Pisciotta C, Wang S, Feely SME, Hoegger M, et al. Absence of Dystrophin Related Protein-2 disrupts Cajal bands in a patient with Charcot–Marie–Tooth disease. *Neuromuscul Disord* 2015;25:786–93.
- [40] Roda RH, McCray BA, Klein CJ, Hoke A. Novel hemizygous nonsense mutation in *DRP2* is associated with inherited neuropathy. *Neurol Genet* 2018;4:e220.
- [41] Mathis S, Funalot B, Boyer O, Lacroix C, Marcorelles P, Magy L, et al. Neuropathologic characterization of *INF2* related Charcot-Marie-Tooth Disease: Evidence for a Schwann Cell Actinopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014;73:223–33.
- [42] Lemieux and Neeme. Charcot-Marie-Tooth Disease and Nephritis. *Can Med Assoc J* 1967;97:1193–8.
- [43] Olivia B, Fabien N, Emmanuelle P, Benoit F, Olivier G, Geneviève B, et al. *INF2* Mutations in Charcot–Marie–Tooth Disease with Glomerulopathy. *N Engl J Med* 2011;365:2377–88.
- [44] Delague V, Jacquier A, Hamadouche T, Poitelon Y, Baudot C, Boccaccio I, et al. Mutations in *FGD4* encoding the Rho GDP/GTP exchange factor Frabin cause Autosomal Recessive Charcot-Marie-Tooth Type 4H. *Am J Hum Genet* 2007;81:1–16.
- [45] Horn M, Baumann R, Pereira JA, Sidiropoulos PNM, Somandin C, Welzl H, et al. Myelin is dependent on the Charcot–Marie–Tooth Type 4H disease culprit protein FRABIN/FGD4 in Schwann cells. *Brain* 2012;135:3567–83.

- [46] Fabrizi GM, Taioli F, Cavallaro T, Ferrari S, Bertolasi L, Casarotto M, et al. Further evidence that mutations in *FGD4*/frabin cause Charcot-Marie-Tooth disease type 4H. *Neurology* 2009;72:1160–4.
- [47] Houlden H, Hammans S, Katifi H, Reilly MM. A novel Frabin (*FGD4*) nonsense mutation p.R275X associated with phenotypic variability in CMT4H. *Neurology* 2009;72:617–20.
- [48] Berti C, Nodari A, Wrabetz L, Feltri ML. Role of integrins in peripheral nerves and hereditary neuropathies. *Neuromolecular Med* 2006;8:191–204.
- [49] Zheng Q, Davis EC, Richardson JA, Starcher BC, Li T, Gerard RD, et al. Molecular Analysis of Fibulin-5 Function during de novo synthesis of elastic fibers. *Mol Cell Biol* 2007;27:1083–95.
- [50] Yanagisawa H, Schluterman MK, Brekken RA. Fibulin-5, an integrin-binding matricellular protein: its function in development and disease. *J Cell Commun Signal* 2009;3:337–47.
- [51] Auer-Grumbach M, Weger M, Fink-Puches R, Papić L, Fröhlich E, Auer-Grumbach P, et al. Fibulin-5 mutations link inherited neuropathies, age-related macular degeneration and hyperelastic skin. *Brain* 2011;134:1839–52.
- [52] Mersivanova IV, Perepelov AV, Polyakov AV, Sitnikov VF, Dadali EL, Oparin RB, et al. A New Variant of Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2 is Probably the result of a mutation in the Neurofilament-Light Gene. *Am J Hum Genet* 2000;67:37–46.
- [53] Jonghe PD, Mersivanova I, Nelis E, Favero JD, Martin J-J, Broeckhoven CV, et al. Further evidence that neurofilament light chain gene mutations can cause Charcot-Marie-Tooth disease type 2E. *Ann Neurol* 2001;49:245–249.
- [54] Timmerman V, Clowes VE, Reid E. Overlapping molecular pathological themes link Charcot–Marie–Tooth neuropathies and hereditary spastic paraplegias. *Exp Neurol* 2013;246:14–25.

- [55] Berciano J, Peeters K, García A, López-Alburquerque T, Gallardo E, Hernández-Fabián A, et al. *NEFL* N98S mutation: another cause of dominant intermediate Charcot–Marie–Tooth disease with heterogeneous early-onset phenotype. *J Neurol* 2016;263:361–9.
- [56] Brownlees J. Charcot-Marie-Tooth disease neurofilament mutations disrupt neurofilament assembly and axonal transport. *Hum Mol Genet* 2002;11:2837–44.
- [57] Jordanova A. Mutations in the neurofilament light chain gene (*NEFL*) cause early onset severe Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2003;126:590–7.
- [58] Liu YT, Laura M, Hershenson J, Horga A, Jaunmuktane Z, Brandner S, et al. Extended phenotypic spectrum of *KIF5A* mutations: From spastic paraplegia to axonal neuropathy. *Neurology* 2014;83:612–9.
- [59] Hafezparast M. Mutations in Dynein link motor neuron degeneration to defects in retrograde transport. *Science* 2003;300:808–12.
- [60] Weedon MN, Hastings R, Caswell R, Xie W, Paszkiewicz K, Antoniadis T, et al. Exome sequencing identifies a *DYNC1H1* mutation in a large pedigree with dominant axonal Charcot-Marie-Tooth Disease. *Am J Hum Genet* 2011;89:308–12.
- [61] Pareyson D, Saveri P, Sagnelli A, Piscosquito G. Mitochondrial dynamics and inherited peripheral nerve diseases. *Neurosci Lett* 2015;596:66–77.
- [62] Montecchiani C, Pedace L, Lo Giudice T, Casella A, Mearini M, Gaudiello F, et al. *ALS5/SPG11/KIAA1840* mutations cause autosomal recessive axonal Charcot–Marie–Tooth disease. *Brain* 2016;139:73–85.
- [63] Tischfield MA, Baris HN, Wu C, Rudolph G, Van Maldergem L, He W, et al. Human *TUBB3* mutations perturb microtubule

- dynamics, kinesin interactions, and axon guidance. *Cell* 2010;140:74–87.
- [64] Hong YB, Lee JH, Park HJ, Choi YR, Hyun YS, Park JH, et al. A family with axonal sensorimotor polyneuropathy with *TUBB3* mutation. *Mol Med Rep* 2015;11:2729–34.
- [65] Verhoeven K. *MFN2* mutation distribution and genotype/phenotype correlation in Charcot-Marie-Tooth type 2. *Brain* 2006;129:2093–102.
- [66] Casanovas C, Banchs I, Cassereau J, Gueguen N, Chevrollier A, Martinez-Matos JA, et al. Phenotypic spectrum of *MFN2* mutations in the Spanish population. *J Med Genet* 2010;47:249–56.
- [67] Feely SME, Laura M, Siskind CE, Sottile S, Davis M, Gibbons VS, et al. *MFN2* mutations cause severe phenotypes in most patients with CMT2A. *Neurology* 2011;76:1690–6.
- [68] Fridman V, Bundy B, Reilly MM, Pareyson D, Bacon C, Burns J, et al. CMT subtypes and disease burden in patients enrolled in the Inherited Neuropathies Consortium natural history study: a cross-sectional analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015;86:873–8.
- [69] Pareyson D, Piscoquito G, Moroni I, Salsano E, Zeviani M. Peripheral neuropathy in mitochondrial disorders. *Lancet Neurol* 2013;12:1011–24.
- [70] Stuppia G, Rizzo F, Riboldi G, Del Bo R, Nizzardo M, Simone C, et al. *MFN2*-related neuropathies: Clinical features, molecular pathogenesis and therapeutic perspectives. *J Neurol Sci* 2015;356:7–18.
- [71] Niemann A, Ruegg M, La Padula V, Schenone A, Suter U. Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J Cell Biol* 2005;170:1067–78.



- [72] Detmer SA, Chan DC. Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:870–9.
- [73] Pla-Martín D, Rueda CB, Estela A, Sánchez-Piris M, González-Sánchez P, Traba J, et al. Silencing of the Charcot–Marie–Tooth disease-associated gene *GDAP1* induces abnormal mitochondrial distribution and affects Ca<sup>2+</sup> homeostasis by reducing store-operated Ca<sup>2+</sup> entry. *Neurobiol Dis* 2013;55:140–51.
- [74] Barneo-Muñoz M, Juárez P, Civera-Tregón A, Yndriago L, Pla-Martín D, Zenker J, et al. Lack of *GDAP1* induces neuronal calcium and mitochondrial defects in a knockout mouse model of Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *PLOS Genet* 2015;11:e1005115.
- [75] Fernandez-Lizarbe S, Civera-Tregón A, Cantarero L, Herrer I, Juárez P, Hoenicka J, et al. Neuroinflammation in the pathogenesis of axonal Charcot-Marie-Tooth disease caused by lack of *GDAP1*. *Exp Neurol* 2019;320:113004.
- [76] Sivera R, Frasquet M, Lupo V, García-Sobrino T, Blanco-Arias P, Pardo J, et al. Distribution and genotype-phenotype correlation of *GDAP1* mutations in Spain. *Sci Rep* 2017;7:6677.
- [77] Xu W, Gu M, Sun L, Guo W, Zhu H, Ma J, et al. A nonsense mutation in *DHTKDI* causes Charcot-Marie-Tooth disease type 2 in a large Chinese pedigree. *Am J Hum Genet* 2012;91:1088–94.
- [78] Hantke J, Chandler D, King R, Wanders RJ, Angelicheva D, Tournev I, et al. A mutation in an alternative untranslated exon of hexokinase 1 associated with Hereditary Motor and Sensory Neuropathy – Russe (HMSNR). *Eur J Hum Genet* 2009;17:1606–14.
- [79] Sevilla T, Martínez-Rubio D, Márquez C, Paradas C, Colomer J, Jaijo T, et al. Genetics of the Charcot-Marie-Tooth disease in the Spanish Gypsy population: the hereditary motor and sensory neuropathy-Russe in depth. *Clin Genet* 2013;83:565–70.

- [80] Okur V, Cho MT, van Wijk R, van Oirschot B, Picker J, Coury SA, et al. De novo variants in *HK1* associated with neurodevelopmental abnormalities and visual impairment. *Eur J Hum Genet* 2019;27:1081–9.
- [81] Cowchock FS, Duckett SW, Streletz LJ, Graziani LJ, Jackson LG, Opitz JM, et al. X-linked motor-sensory neuropathy type-II with deafness and mental retardation: A new disorder. *Am J Med Genet* 1985;20:307–15.
- [82] Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CYJ, et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 2001;410:549–54.
- [83] Rinaldi C, Grunseich C, Sevrioukova IF, Schindler A, Horkayne-Szakaly I, Lamperti C, et al. Cowchock Syndrome is associated with a mutation in apoptosis-inducing factor. *Am J Hum Genet* 2012;91:1095–102.
- [84] Kennerson ML, Yiu EM, Chuang DT, Kidambi A, Tso S-C, Ly C, et al. A new locus for X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth disease (CMTX6) is caused by mutations in the pyruvate dehydrogenase kinase isoenzyme 3 (*PDK3*) gene. *Hum Mol Genet* 2013;22:1404–16.
- [85] Perez-Siles G, Ly C, Grant A, Drew AP, Yiu EM, Ryan MM, et al. Pathogenic mechanisms underlying X-linked Charcot-Marie-Tooth neuropathy (CMTX6) in patients with a pyruvate dehydrogenase kinase 3 mutation. *Neurobiol Dis* 2016;94:237–44.
- [86] Tamiya G, Makino S, Hayashi M, Abe A, Numakura C, Ueki M, et al. A Mutation of *COX6A1* causes a recessive axonal or mixed form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Am J Hum Genet* 2014;95:294–300.
- [87] Pitceathly RDS, Murphy SM, Cottenie E, Chalasani A, Sweeney MG, Woodward C, et al. Genetic dysfunction of *MT-ATP6* causes

- axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 2012;79:1145–54.
- [88] Auer-Grumbach M, Schlotter-Weigel B, Lochmüller H, Strobl-Wildemann G, Auer-Grumbach P, Fischer R, et al. Phenotypes of the N88S Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 mutation: Phenotypes of N88S *BSCL2*. *Ann Neurol* 2005;57:415–24.
- [89] Ito D, Suzuki N. Seipinopathy: a novel endoplasmic reticulum stress-associated disease. *Brain* 2009;132:8–15.
- [90] Weihl CC, Pestronk A, Kimonis VE. Valosin-containing protein disease: Inclusion body myopathy with Paget's disease of the bone and fronto-temporal dementia. *Neuromuscul Disord* 2009;19:308–15.
- [91] Gonzalez MA, Feely SM, Speziani F, Strickland AV, Danzi M, Bacon C, et al. A novel mutation in *VCP* causes Charcot-Marie-Tooth Type 2 disease. *Brain* 2014;137:2897–902.
- [92] Hong YB, Kang J, Kim JH, Lee J, Kwak G, Hyun YS, et al. *DGAT2* mutation in a family with autosomal-dominant early-onset axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mutat* 2016;37:473–80.
- [93] Evgrafov OV, Mersiyanova I, Irobi J, Van Den Bosch L, Dierick I, Leung CL, et al. Mutant small heat-shock protein 27 causes axonal Charcot-Marie-Tooth disease and distal hereditary motor neuropathy. *Nat Genet* 2004;36:602–6.
- [94] Adriaenssens E, Geuens T, Baets J, Echaniz-Laguna A, Timmerman V. Novel insights in the disease biology of mutant small heat shock proteins in neuromuscular diseases. *Brain* 2017;140:2541–9.
- [95] Street VA, Bennett CL, Goldy JD, Shirk AJ, Kleopa KA, Tempel BL, et al. Mutation of a putative protein degradation gene *LITAF/SIMPLE* in Charcot-Marie-Tooth disease 1C. *Neurology* 2003;60:22–6.

- [96] Lee SM, Olzmann JA, Chin LS, Li L. Mutations associated with Charcot-Marie-Tooth disease cause SIMPLE protein mislocalization and degradation by the proteasome and aggresome-autophagy pathways. *J Cell Sci* 2011;124:3319–31.
- [97] Bolino A, Muglia M, Conforti FL, LeGuern E, Salih MAM, Georgiou D-M, et al. Charcot-Marie-Tooth type 4B is caused by mutations in the gene encoding myotubularin-related protein-2. *Nat Genet* 2000;25:17–9.
- [98] Azzedine H, Bolino A, Taïeb T, Birouk N, Di Duca M, Bouhouche A, et al. Mutations in *MTMR13*, a new pseudophosphatase homologue of *MTMR2* and *Sbf1*, in two families with an autosomal recessive demyelinating form of Charcot-Marie-Tooth disease associated with early-onset glaucoma. *Am J Hum Genet* 2003;72:1141–53.
- [99] Nakhro K. SET binding factor 1 (*SBF1*) mutation causes Charcot-Marie-Tooth disease type 4B3. *Neurology* 2013;81:165-173.
- [100] Chow CY, Zhang Y, Dowling JJ, Jin N, Adamska M, Shiga K, et al. Mutation of *FIG4* causes neurodegeneration in the pale tremor mouse and patients with CMT4J. *Nature* 2007;448:68–72.
- [101] Vaccari I, Dina G, Tronchère H, Kaufman E, Chicanne G, Cerri F, et al. Genetic interaction between *MTMR2* and *FIG4* phospholipid phosphatases involved in Charcot-Marie-Tooth neuropathies. *PLoS Genet* 2011;7(10):e1002319.
- [102] Fabrizi GM, Ferrarini M, Cavallaro T, Cabrini I, Cerini R, Bertolasi L, et al. Two novel mutations in dynamin-2 cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 2007;69:291–5.
- [103] Claeys KG, Zuchner S, Kennerson M, Berciano J, Garcia A, Verhoeven K, et al. Phenotypic spectrum of dynamin 2 mutations in Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain* 2009;132:1741–52.
- [104] Verhoeven K, De Jonghe P, Coen K, Verpoorten N, Auer-Grumbach M, Kwon JM, et al. Mutations in the small GTP-ase

- late endosomal protein RAB7 cause Charcot-Marie-Tooth type 2B neuropathy. *Am J Hum Genet* 2003;72:722–7.
- [105] Senderek J, Bergmann C, Stendel C, Kirfel J, Verpoorten N, De Jonghe P, et al. Mutations in a gene encoding a novel SH3/TPR domain protein cause autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth type 4C neuropathy. *Am J Hum Genet* 2003;73:1106–19.
- [106] Lupo V, Galindo MI, Martínez-Rubio D, Sevilla T, Vílchez JJ, Palau F, et al. Missense mutations in the *SH3TC2* protein causing Charcot-Marie-Tooth disease type 4C affect its localization in the plasma membrane and endocytic pathway. *Hum Mol Genet* 2009;18:4603–14.
- [107] Berger P, Sirkowski EE, Scherer SS, Suter U. Expression analysis of the N-Myc downstream-regulated gene 1 indicates that myelinating Schwann cells are the primary disease target in hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *Neurobiol Dis* 2004;17:290–9.
- [108] Hunter M, Angelicheva D, Tournev I, Ingley E, Chan DC, Watts GF, et al. *NDRGI* interacts with APO A-I and A-II and is a functional candidate for the HDL-C QTL on 8q24. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;332:982–92.
- [109] Niemann A, Berger P, Suter U. Pathomechanisms of mutant proteins in Charcot-Marie-Tooth disease. *NeuroMolecular Med* 2006;8:217–241.
- [110] Auer-Grumbach M, Toegel S, Schabhüttl M, Weinmann D, Chiari C, Bennett DLH, et al. Rare variants in *MME*, encoding metalloprotease neprilysin, are linked to late-onset autosomal-dominant axonal polyneuropathies. *Am J Hum Genet* 2016;99:607–23.
- [111] Higuchi Y, Hashiguchi A, Yuan J, Yoshimura A, Mitsui J, Ishiura H, et al. Mutations in *MME* cause an autosomal-recessive Charcot-Marie-Tooth disease type 2. *Ann Neurol* 2016;79(4):659–72.

- [112] Tétreault M, Gonzalez M, Dicaire M-J, Allard P, Gehring K, Leblanc D, et al. Adult-onset painful axonal polyneuropathy caused by a dominant *NAGLU* mutation. *Brain* 2015;138:1477–83.
- [113] Nicolaou P, Cianchetti C, Minaidou A, Marrosu G, Zamba-Papanicolaou E, Middleton L, et al. A novel *LRSAM1* mutation is associated with autosomal dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Eur J Hum Genet* 2013;21:190–4.
- [114] Ylikallio E, Poyhonen R, Zimon M, De Vriendt E, Hilander T, Paetau A, et al. Deficiency of the E3 ubiquitin ligase *TRIM2* in early-onset axonal neuropathy. *Hum Mol Genet* 2013;22:2975–83.
- [115] Pehlivan D, Coban Akdemir Z, Karaca E, Bayram Y, Jhangiani S, et al. Exome sequencing reveals homozygous *TRIM2* mutation in a patient with early onset CMT and bilateral vocal cord paralysis. *Hum Genet* 2015;134:671–3.
- [116] Klein CJ, Wu Y, Vogel P, Goebel HH, Bonnemann C, Zukosky K, et al. Ubiquitin ligase defect by *DCAF8* mutation causes HMSN2 with giant axons. *Neurology* 2014;82:873–8.
- [117] Gess B, Auer-Grumbach M, Schirmacher A, Strom T, Zitzelsberger M, Rudnik-Schoneborn S, et al. *HSJ1*-related hereditary neuropathies: Novel mutations and extended clinical spectrum. *Neurology* 2014;83:1726–32.
- [118] Frasquet M, Chumillas MJ, Vílchez JJ, Márquez-Infante C, Palau F, Vázquez-Costa JF, et al. Phenotype and natural history of inherited neuropathies caused by *HSJ1* c.352+1G>A mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016;87:1265–8.
- [119] Tazir M. Phenotypic variability in autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease due to the R298C mutation in *lamin A/C*. *Brain* 2004;127:154–63.

- [120] Rankin J, Ellard S. The laminopathies: a clinical review. *Clin Genet* 2006;70:261–74.
- [121] Antonellis A, Ellsworth RE, Sambuughin N, Puls I, Abel A, Lee-Lin SQ, et al. Glycyl tRNA synthetase mutations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2D and distal spinal muscular atrophy type V. *Am J Hum Genet* 2003;72:1293–9.
- [122] Jordanova A, Irobi J, Thomas FP, Van Dijck P, Meerschaert K, Dewil M, et al. Disrupted function and axonal distribution of mutant tyrosyl-tRNA synthetase in dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Nat Genet* 2006;38:197–202.
- [123] Latour P, Thauvin-Robinet C, Baudelet-Méry C, Soichot P, Cusin V, Faivre L, et al. A major determinant for binding and aminoacylation of tRNA Ala in cytoplasmic alanyl-tRNA synthetase is mutated in dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Am J Hum Genet* 2010;86:77–82.
- [124] McLaughlin HM, Sakaguchi R, Liu C, Igarashi T, Pehlivan D, Chu K, et al. Compound heterozygosity for loss-of-function lysyl-tRNA synthetase mutations in a patient with peripheral neuropathy. *Am J Hum Genet* 2010;87:560–6.
- [125] Gonzalez M, McLaughlin H, Houlden H, Guo M, Yo-Tsen L, Hadjivassiliou M, et al. Exome sequencing identifies a significant variant in methionyl-tRNA synthetase (*MARS*) in a family with late-onset CMT2. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013;84:1247–1249.
- [126] Vester A, Velez-Ruiz G, McLaughlin HM, NISC Comparative Sequencing Program, Lupski JR, Talbot K, et al. A loss-of-function variant in the human histidyl-tRNA synthetase (*HARS*) gene is neurotoxic in vivo. *Hum Mutat* 2013;34:191–9.
- [127] Safka Brozkova D, Deconinck T, Beth Griffin L, Ferbert A, Haberlova J, Mazanec R, et al. Loss of function mutations in *HARS* cause a spectrum of inherited peripheral neuropathies. *Brain* 2015;138:2161–72.

- [128] Abbott JA, Meyer-Schuman R, Lupo V, Feely S, Mademan I, Oprescu SN, et al. Substrate interaction defects in histidyl-tRNA synthetase linked to dominant axonal peripheral neuropathy. *Hum Mutat* 2018;39:415–32.
- [129] Warner LE. Functional consequences of mutations in the early growth response 2 gene (*EGR2*) correlate with severity of human myelinopathies. *Hum Mol Genet* 1999;8:1245–51.
- [130] Sevilla T, Sivera R, Martínez-Rubio D, Lupo V, Chumillas MJ, Calpena E, et al. The *EGR2* gene is involved in axonal Charcot–Marie–Tooth disease. *Eur J Neurol* 2015;22:1548–55.
- [131] Shao Y, Li Y, Zhang J, Liu D, Liu F, Zhao Y, et al. Involvement of histone deacetylation in *MORC2*-mediated down-regulation of carbonic anhydrase IX. *Nucleic Acids Res* 2010;38:2813–24.
- [132] Li D-Q, Nair SS, Ohshiro K, Kumar A, Nair VS, Pakala SB, et al. *MORC2* signaling integrates phosphorylation-dependent, ATPase-coupled chromatin remodeling during the DNA damage response. *Cell Rep* 2012;2:1657–69.
- [133] Sánchez-Solana B, Li DQ, Kumar R. Cytosolic functions of *MORC2* in lipogenesis and adipogenesis. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2014;1843:316–26.
- [134] Sevilla T, Lupo V, Martínez-Rubio D, Sancho P, Sivera R, Chumillas MJ, et al. Mutations in the *MORC2* gene cause axonal Charcot–Marie–Tooth disease. *Brain* 2016;139:62–72.
- [135] Albulym OM, Kennerson ML, Harms MB, Drew AP, Siddell AH, Auer-Grumbach M, et al. *MORC 2* mutations cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease with pyramidal signs: *MORC2* Mutations Cause CMT. *Ann Neurol* 2016;79:419–27.
- [136] Zimon M, Baets J, Almeida-Souza L, De Vriendt E, Nikodinovic J, Parman Y, et al. Loss-of-function mutations in *HINT1* cause axonal neuropathy with neuromyotonia. *Nat Genet* 2012;44:1080–3.



- [137] Horga A, Cottenie E, Tomaselli PJ, Rojas-García R, Salvado M, Villarreal-Pérez L, et al. Absence of *HINT1* mutations in a UK and Spanish cohort of patients with inherited neuropathies. *J Neurol* 2015;262:1984–6.
- [138] Peeters K, Chamova T, Tournev I, Jordanova A. Axonal neuropathy with neuromyotonia: there is a HINT. *Brain* 2017;140:868-877.
- [139] Cottenie E, Kochanski A, Jordanova A, Bansagi B, Zimon M, Horga A, et al. Truncating and missense mutations in *IGHMBP2* cause Charcot-Marie Tooth disease type 2. *Am J Hum Genet* 2014;95:590–601.
- [140] Schottmann G, Jungbluth H, Schara U, Knierim E, Morales Gonzalez S, Gill E, et al. Recessive truncating *IGHMBP2* mutations presenting as axonal sensorimotor neuropathy. *Neurology* 2015;84:523–31.
- [141] Wagner JD, Huang L, Tetreault M, Majewski J, Boycott KM, Bulman DE, et al. Autosomal recessive axonal polyneuropathy in a sibling pair due to a novel homozygous mutation in *IGHMBP2*. *Neuromuscul Disord* 2015;25:794–9.
- [142] Leal A, Huehne K, Bauer F, Sticht H, Berger P, Suter U, et al. 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* 2009;10:275–87.
- [143] Leal A, Bogantes-Ledezma S, Ekici AB, Uebe S, Thiel CT, Sticht H, et al. The polynucleotide kinase 3'-phosphatase gene (*PNKP*) is involved in Charcot-Marie-Tooth disease (CMT2B2) previously related to *MED25*. *Neurogenetics* 2018;19:215–25.
- [144] Kim H, Hong Y, Park JM, Choi YR, Kim Y, Yoon B, et al. Mutations in the *PLEKHG5* gene is relevant with autosomal

- recessive intermediate Charcot-Marie-Tooth disease. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:104.
- [145] Azzedine H, Zavadakova P, Planté-Bordeneuve V, Vaz Pato M, Pinto N, Bartesaghi L, et al. *PLEKHG5* deficiency leads to an intermediate form of autosomal-recessive Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mol Genet* 2013;22:4224–32.
- [146] Kim HJ, Sohn KM, Shy ME, Krajewski KM, Hwang M, Park J-H, et al. 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). *Am J Hum Genet* 2007;81:552–8.
- [147] Sivera R, Sevilla T, Vilchez JJ, Martinez-Rubio D, Chumillas MJ, Vazquez JF, et al. Charcot-Marie-Tooth disease: Genetic and clinical spectrum in a Spanish clinical series. *Neurology* 2013;81:1617–25.
- [148] Shy ME, Siskind C, Swan ER, Krajewski KM, Doherty T, Fuerst DR, et al. CMTX1 phenotypes represent loss of *GJB1* gene function. *Neurology* 2007;68:849–55.
- [149] Panosyan FB, Laura M, Rossor AM, Pisciotto C, Piscoquito G, Burns J, et al. Cross-sectional analysis of a large cohort with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease (CMTX1). *Neurology* 2017;89:927–35.
- [150] Landouré G, Zdebik AA, Martinez TL, Burnett BG, Stanescu HC, Inada H, et al. Mutations in *TRPV4* cause Charcot-Marie-Tooth disease type 2C. *Nat Genet* 2010;42:170–4.
- [151] Laurà M, Hutton EJ, Blake J, Lunn MP, Fox Z, Pareyson D, et al. Pain and small fiber function in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: Pain in CMT1A. *Muscle Nerve* 2014;50:366–71.

- [152] Boentert M, Knop K, Schuhmacher C, Gess B, Okegwo A, Young P. Sleep disorders in Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;85:319–25.
- [153] Saporta ASD, Sottile SL, Miller LJ, Feely SME, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011;69:22–33.
- [154] Miller LJ. Strategy for genetic testing in Charcot-Marie-Disease. *Acta Myol* 2011;30:109-116.
- [155] Arnold WD, Isfort M, Roggenbuck J, Hoyle JC. The genetics of Charcot-Marie-Tooth disease: current trends and future implications for diagnosis and management. *Appl Clin Genet* 2015;8:235-243.
- [156] Gallardo E, García A, Combarros O, Berciano J. Charcot–Marie–Tooth disease type 1A duplication: spectrum of clinical and magnetic resonance imaging features in leg and foot muscles. *Brain* 2006;129:426–37.
- [157] Pelayo-Negro AL, Gallardo E, García A, Sánchez-Juan P, Infante J, Berciano J. Evolution of Charcot–Marie–Tooth disease type 1A duplication: a 2-year clinico-electrophysiological and lower-limb muscle MRI longitudinal study. *J Neurol* 2014;261:675–85.
- [158] Pareyson D, Reilly MM, Schenone A, Fabrizi GM, Cavallaro T, Santoro L, et al. Ascorbic acid in Charcot–Marie–Tooth disease type 1A (CMT-TRIAAL and CMT-TRAUK): a double-blind randomised trial. *Lancet Neurol* 2011;10:320–8.
- [159] Lewis RA. High-Dosage Ascorbic Acid Treatment in Charcot-Marie-Tooth Disease Type 1A: Results of a Randomized, Double-Masked, Controlled Trial. *JAMA Neurol* 2013;70:981.
- [160] Meyer zu Horste G, Prukop T, Liebetanz D, Mobius W, Nave K-A, Sereida MW. Antiprogestrone therapy uncouples axonal loss from demyelination in a transgenic rat model of CMT1A neuropathy. *Ann Neurol* 2007;61:61–72.

- [161] Juneja M, Burns J, Saporta MA, Timmerman V. Challenges in modelling the Charcot-Marie-Tooth neuropathies for therapy development. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019;90:58–67.
- [162] Johnson N, McCorquodale D, Pucillo E. Management of Charcot-Marie-Tooth disease: improving long-term care with a multidisciplinary approach. *J Multidiscip Healthc* 2016;9:7-19.
- [163] Yagerman SE, Cross MB, Green DW, Scher DM. Pediatric orthopedic conditions in Charcot–Marie–Tooth disease: a literature review. *Curr Opin Pediatr* 2012;24:50–6.
- [164] Taioli F, Cabrini I, Cavallaro T, Acler M, Fabrizi GM. Inherited demyelinating neuropathies with micromutations of peripheral myelin protein 22 gene. *Brain* 2011;134:608–17.
- [165] Koutsis G, Pandraud A, Polke JM, Wood NW, Panas M, Karadima G, et al. Novel peripheral myelin protein 22 (*PMP22*) micromutations associated with variable phenotypes in Greek patients with Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2012;135:e217–e217.
- [166] Li J, Parker B, Martyn C, Natarajan C, Guo J. The *PMP22* gene and its related diseases. *Mol Neurobiol* 2013;47:673–98.
- [167] Vital A, Sole G, Casenave P, Magdelaine C, Ferrer X, Vital C, et al. Severe Charcot-Marie-Tooth disease type 1E caused by a novel p.Phe84Leufs\*24 *PMP22* point mutation. *J Peripher Nerv Syst* 2013;18:181–4.
- [168] Russo M, Laurá M, Polke JM, Davis MB, Blake J, Brandner S, et al. Variable phenotypes are associated with *PMP22* missense mutations. *Neuromuscul Disord* 2011;21:106–14.
- [169] Siskind CE, Panchal S, Smith CO, Feely SME, Dalton JC, Schindler AB, et al. A Review of genetic counseling for Charcot Marie Tooth Disease (CMT). *J Genet Couns* 2013;22:422–36.
- [170] Shy ME. Phenotypic clustering in *MPZ* mutations. *Brain* 2004;127:371–84.

- [171] Shy ME. Peripheral neuropathies caused by mutations in the myelin protein zero. *J Neurol Sci* 2006;242:55–66.
- [172] Sanmaneechai O, Feely S, Scherer SS, Herrmann DN, Burns J, Muntoni F, et al. Genotype–phenotype characteristics and baseline natural history of heritable neuropathies caused by mutations in the *MPZ* gene. *Brain* 2015;138:3180–92.
- [173] De Jonghe P, Timmerman V, Ceuterick C, Nelis E, De Vriendt E, Löfgren A, et al. The Thr124Met mutation in the peripheral myelin protein zero (*MPZ*) gene is associated with a clinically distinct Charcot–Marie–Tooth phenotype. *Brain* 1999;122:281–90.
- [174] Gallardo E, García A, Ramón C, Maraví E, Infante J, Gastón I, et al. Charcot–Marie–Tooth disease type 2J with *MPZ* Thr124Met mutation: clinico-electrophysiological and MRI study of a family. *J Neurol* 2009;256:2061–71.
- [175] Banchs I, Casasnovas C, Montero J, Volpini V, Martínez-matos JA. Charcot-Marie-Tooth disease with intermediate conduction velocities caused by a novel mutation in the *MPZ* gene. *Muscle Nerve* 2010;42:184–8.
- [176] Sevilla T, Lupo V, Sivera R, Marco-Marín C, Martínez-Rubio D, Rivas E, et al. Congenital hypomyelinating neuropathy due to a novel *MPZ* mutation. *J Peripher Nerv Syst* 2011;16:347–52.
- [177] Callegari I, Gemelli C, Geroldi A, Veneri F, Mandich P, D’Antonio M, et al. Mutation update for myelin protein zero related neuropathies and the increasing role of variants causing a late-onset phenotype. *J Neurol* 2019;266:2629-2645.
- [178] Mathis S, Vallat J-M. Jules Dejerine and the peripheral nervous system. *Neurology* 2017;89:611–5.
- [179] Dacci P, Taroni F, Bella ED, Milani M, Pareyson D, Morbin M, et al. Myelin protein zero Arg36Gly mutation with very late onset

- and rapidly progressive painful neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2012;17:422–5.
- [180] Laura M, Milani M, Morbin M, Moggio M, Ripolone M, Jann S, et al. Rapid progression of late onset axonal Charcot Marie Tooth disease associated with a novel *MPZ* mutation in the extracellular domain. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:1263–6.
- [181] Warner LE, Mancias P, Butler IJ, McDonald CM, Keppen L, Koob KG, et al. Mutations in the early growth response 2 (*EGR2*) gene are associated with hereditary myelinopathies. *Nat Genet* 1998;18:382–4.
- [182] Timmerman V, De Jonghe P, Ceuterick C, De Vriendt E, Lofgren A, Nelis E, et al. Novel missense mutation in the early growth response 2 gene associated with Dejerine-Sottas syndrome phenotype. *Neurology* 1999;52:1827–1827.
- [183] Tozza S, Magri S, Pennisi EM, Schirinzi E, Pisciotta C, Balistreri F, et al. A novel family with axonal Charcot-Marie-Tooth disease caused by a mutation in the *EGR2* gene. *J Peripher Nerv Syst* 2019;24:219–23.
- [184] Pareyson D, Taroni F, Botti S, Morbin M, Baratta S, Lauria G, et al. Cranial nerve involvement in CMT disease type 1 due to early growth response 2 gene mutation. *Neurology* 2000;54:1696–8.
- [185] Szigeti K, Wiszniewski W, Saifi GM, Sherman DL, Sule N, Adesina AM, et al. Functional, histopathologic and natural history study of neuropathy associated with *EGR2* mutations. *Neurogenetics* 2007;8:257–62.
- [186] Fusco C, Spagnoli C, Salerno GG, Pavlidis E, Frattini D, Pisani F, et al. Charcot-Marie-Tooth disease with pyramidal features due to a new mutation of *EGR2* gene. *Acta Biomed* 2019;90:104–7.
- [187] Fabrizi GM, Cavallaro T, Angiari C, Cabrini I, Taioli F, Malerba G, et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 2E, a disorder of the cytoskeleton. *Brain* 2007;130:394–403.

- [188] Horga A, Laurà M, Jaunmuktane Z, Jerath NU, Gonzalez MA, Polke JM, et al. Genetic and clinical characteristics of *NEFL* related Charcot-Marie-Tooth disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017;88:575–85.
- [189] Miltenberger-Miltenyi G, Janecke AR, Wanschitz JV, Timmerman V, Windpassinger C, Auer-Grumbach M, et al. Clinical and electrophysiological features in Charcot-Marie-Tooth disease with mutations in the *NEFL* gene. *Arch Neurol* 2007;64:966-70.
- [190] Berciano J, Peeters K, García A, López-Alburquerque T, Gallardo E, Hernández-Fabián A, et al. *NEFL* N98S mutation: another cause of dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth disease with heterogeneous early-onset phenotype. *J Neurol* 2016;263:361–9.
- [191] Claramunt R, Sevilla T, Lupo V, Cuesta A, Millán J, Vílchez J, et al. The p.R1109X mutation in *SH3TC2* gene is predominant in Spanish Gypsies with Charcot-Marie-Tooth disease type 4. *Clin Genet* 2007;71:343–9.
- [192] Azzedine H, Ravise N, Verny C, Gabreels-Festen A, Lammens M, Grid D, et al. Spine deformities in Charcot-Marie-Tooth 4C caused by *SH3TC2* gene mutations. *Neurology* 2006;67:602–6.
- [193] Houlden H, Laura M, Ginsberg L, Jungbluth H, Robb SA, Blake J, et al. The phenotype of Charcot-Marie-Tooth disease type 4C due to *SH3TC2* mutations and possible predisposition to an inflammatory neuropathy. *Neuromuscul Disord* 2009;19:264–9.
- [194] Jerath NU, Mankodi A, Crawford TO, Grunseich C, Baloui H, Nnamdi-Emeratom C, et al. Charcot-Marie-Tooth Disease type 4C: Novel mutations, clinical presentations, and diagnostic challenges: *SH3TC2* mutations in rare CMT4C. *Muscle Nerve* 2018;57:749–55.
- [195] Skott H, Muntean-Firanescu C, Samuelsson K, Verrecchia L, Svenningsson P, Malmgren H, et al. The cerebellar phenotype of

- Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 4C. *Cerebellum Ataxias* 2019;6:9.
- [196] Yger M, Stojkovic T, Tardieu S, Maisonobe T, Brice A, Echaniz-Laguna A, et al. Characteristics of clinical and electrophysiological pattern of Charcot-Marie-Tooth 4C. *J Peripher Nerv Syst* 2012;17:112–22.
- [197] Piscosquito G, Saveri P, Magri S, Ciano C, Gandioli C, Morbin M, et al. Screening for *SH3TC2* gene mutations in a series of demyelinating recessive Charcot-Marie-Tooth disease (CMT4). *J Peripher Nerv Syst* 2016;21:142–9.
- [198] Ricard E, Mathis S, Magdelaine C, Delisle M-B, Magy L, Funalot B, et al. CMT4D (*NDRG1* mutation): genotype-phenotype correlations. *J Peripher Nerv Syst* 2013;18:261–5.
- [199] Thomas PK, Kalaydjieva L, Youl B, Rogers T, Angelicheva D, King RHM, et al. Hereditary motor and sensory neuropathy-Russe: New autosomal recessive neuropathy in balkan gypsies. *Ann Neurol* 2001;50:452–7.
- [200] Polke JM, Laura M, Pareyson D, Taroni F, Milani M, Bergamin G, et al. Recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease due to compound heterozygous mitofusin 2 mutations. *Neurology* 2011;77:168–73.
- [201] Feely SME, Laura M, Siskind CE, Sottile S, Davis M, Gibbons VS, et al. *MFN2* mutations cause severe phenotypes in most patients with CMT2A. *Neurology* 2011;76:1690–6.
- [202] Chung KW. Early onset severe and late-onset mild Charcot-Marie-Tooth disease with mitofusin 2 (*MFN2*) mutations. *Brain* 2006;129:2103–18.
- [203] Ando M, Hashiguchi A, Okamoto Y, Yoshimura A, Hiramatsu Y, Yuan J, et al. Clinical and genetic diversities of Charcot-Marie-Tooth disease with *MFN2* mutations in a large case study. *J Peripher Nerv Syst* 2017;22:191–9.



- [204] Brockmann K, Dreha-Kulaczewski S, Dechent P, Bönnemann C, Helms G, Kyllerman M, et al. Cerebral involvement in axonal Charcot-Marie-Tooth neuropathy caused by mitofusin2 mutations. *J Neurol* 2008;255:1049–58.
- [205] Bombelli F, Stojkovic T, Dubourg O, Echaniz-Laguna A, Tardieu S, Larcher K, et al. Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2A: from typical to rare phenotypic and genotypic features. *JAMA Neurol* 2014;71:1036.
- [206] Cassereau J, Chevrollier A, Gueguen N, Desquiret V, Verny C, Nicolas G, et al. Mitochondrial dysfunction and pathophysiology of Charcot-Marie-Tooth disease involving *GDAP1* mutations. *Exp Neurol* 2011;227:31–41.
- [207] Sevilla T, Cuesta A, Chunillas MJ, Mayordomo F, Pedrola L, Palau F et al. Clinical, electrophysiological and morphological findings of Charcot-Marie-Tooth neuropathy with vocal cord palsy and mutations in the *GDAP1* gene. *Brain* 2003;126:2023–33.
- [208] Sevilla T, Jaijo T, Nauffal D, Collado D, Chumillas MJ, Vilchez JJ, et al. Vocal cord paresis and diaphragmatic dysfunction are severe and frequent symptoms of *GDAP1*-associated neuropathy. *Brain* 2008;131:3051–61.
- [209] Baxter RV, Othmane KB, Rochelle JM, Stajich JE, Hulette C, Dew-Knight S, et al. Ganglioside-induced differentiation associated protein-1 is mutant in Charcot-Marie-Tooth disease type 4A/8q21. *Nat Genet* 2002;30:21–2.
- [210] Cuesta A, Pedrola L, Sevilla T, García-Planells J, Chumillas MJ, Mayordomo F, et al. The gene encoding ganglioside-induced differentiation-associated protein 1 is mutated in axonal Charcot-Marie-Tooth type 4A disease. *Nat Genet* 2002;30:22–5.
- [211] Senderek J. Mutations in the ganglioside-induced differentiation-associated protein-1 (*GDAP1*) gene in intermediate type

- autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain* 2003;126:642–9.
- [212] Claramunt R. Genetics of Charcot-Marie-Tooth disease type 4A: mutations, inheritance, phenotypic variability, and founder effect. *J Med Genet* 2005;42:358–65.
- [213] Chung KW, Kim SM, Sunwoo IN, Cho SY, Hwang SJ, Kim J, et al. A novel *GDAP1* Q218E mutation in autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *J Hum Genet* 2008;53:360–4.
- [214] Sivera R, Espinós C, Vílchez JJ, Mas F, Martínez-Rubio D, Chumillas MJ, et al. Phenotypical features of the p.R120W mutation in the *GDAP1* gene causing autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst* 2010;15:334–44.
- [215] Auranen M, Ylikallio E, Toppila J, Somer M, Kiuru-Enari S, Tynnismaa H. Dominant *GDAP1* founder mutation is a common cause of axonal Charcot-Marie-Tooth disease in Finland. *Neurogenetics* 2013;14:123–32.
- [216] Zhao X, Li X, Hu Z, Liu L, Xie Y, Tian T, et al. *MORC2* mutations in a cohort of Chinese patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 2. *Brain* 2016;139:e56–e56.
- [217] Zanni G, Nardella M, Barresi S, Bellacchio E, Niceta M, Ciolfi A, et al. De novo p.T362R mutation in *MORC2* causes early onset cerebellar ataxia, axonal polyneuropathy and nocturnal hypoventilation. *Brain* 2017;140:e34–e34.
- [218] Schottmann G, Wagner C, Seifert F, Stenzel W, Schuelke M. *MORC2* mutation causes severe spinal muscular atrophy-phenotype, cerebellar atrophy, and diaphragmatic paralysis. *Brain* 2016;139:e70.
- [219] Lupo V, Frassetto M, Sánchez-Monteaigudo A, Pelayo-Negro AL, García-Sobrino T, Sedano MJ, et al. Characterising the phenotype and mode of inheritance of patients with inherited peripheral

- neuropathies carrying *MME* mutations. *J Med Genet* 2018;55:814–23.
- [220] Gonzaga-Jauregui C, Zhang F, Towne CF, Batish SD, Lupski JR. *GJB1*/Connexin 32 whole gene deletions in patients with X-linked Charcot–Marie–Tooth disease. *Neurogenetics* 2010;11:465–70.
- [221] Capponi S, Geroldi A, Pezzini I, Gulli R, Ciotti P, Ursino G, et al. Contribution of copy number variations in *CMT1X*: a retrospective study. *Eur J Neurol* 2015;22:406–9.
- [222] Tomaselli PJ, Rossor AM, Horga A, Jaunmuktane Z, Carr A, Saveri P, et al. Mutations in noncoding regions of *GJB1* are a major cause of X-linked CMT. *Neurology* 2017;88:1445–53.
- [223] Arthur-Farraj PJ, Murphy SM, Laura M, Lunn MP, Manji H, Blake J, et al. Hand weakness in Charcot-Marie-Tooth disease 1X. *Neuromuscul Disord* 2012;22:622–6.
- [224] Taylor RA, Simon EM, Marks HG, Scherer SS. CME the CNS phenotype of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 2003;61:1475–8.
- [225] Siskind CE, Murphy SM, Ovens R, Polke J, Reilly MM, Shy ME. Phenotype expression in women with *CMT1X*. *J Peripher Nerv Syst* 2011;16:102–7.
- [226] Murphy SM, Ovens R, Polke J, Siskind CE, Laurà M, Bull K, et al. X inactivation in females with X-linked Charcot–Marie–Tooth disease. *Neuromuscul Disord* 2012;22:617–21.
- [227] Abrams CK, Goman M, Wong S, Scherer SS, Kleopa KA, Peinado A, et al. Loss of coupling distinguishes *GJB1* mutations associated with CNS manifestations of *CMT1X* from those without CNS manifestations. *Sci Rep* 2017;7:40166.
- [228] Gutierrez A, England JD, Sumner AJ, Ferer S, Warner LE, Lupski JR, et al. Unusual electrophysiological findings in X-

- linked dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *Muscle and Nerve* 2000;20:182-8.
- [229] Dubourg O. Clinical, electrophysiological and molecular genetic characteristics of 93 patients with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2001;124:1958-67.
- [230] Scherer SS, Kleopa KA. X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst* 2012;17:9-13.
- [231] Irobi J. The phenotype of motor neuropathies associated with *BSCL2* mutations is broader than Silver syndrome and distal HMN type V. *Brain* 2004;127:2124-30.
- [232] Windpassinger C, Auer-Grumbach M, Irobi J, Patel H, Petek E, Hörl G, et al. Heterozygous missense mutations in *BSCL2* are associated with distal hereditary motor neuropathy and Silver syndrome. *Nat Genet* 2004;36:271-6.
- [233] Musacchio T, Zaum A-K, Üçeyler N, Sommer C, Pfeifroth N, Reiners K, et al. ALS and MMN mimics in patients with *BSCL2* mutations: the expanding clinical spectrum of SPG17 hereditary spastic paraplegia. *J Neurol* 2017;264:11-20.
- [234] Rohkamm B, Reilly MM, Lochmüller H, Schlotter-Weigel B, Barisic N, Schöls L, et al. Further evidence for genetic heterogeneity of distal HMN type V, CMT2 with predominant hand involvement and Silver syndrome. *J Neurol Sci* 2007;263:100-6.
- [235] Ito D, Suzuki N. Seipinopathy: a novel endoplasmic reticulum stress-associated disease. *Brain* 2009;132:8-15.
- [236] Luigetti M, Fabrizi GM, Madia F, Ferrarini M, Conte A, Delgrande A, et al. SEIPIN S90L mutation in an Italian family with CMT2/dHMN and pyramidal signs. *Muscle Nerve* 2010;42:448-51.
- [237] Choi BO, Park MH, Chung KW, Woo HM, Koo H, Chung HK, et al. Clinical and histopathological study of Charcot-Marie-Tooth

- neuropathy with a novel S90W mutation in *BSCL2*. *Neurogenetics* 2013;14:35–42.
- [238] Braathen GJ, Sand JC, Lobato A, Høyer H, Russell MB. Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth in the general population: Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth. *Eur J Neurol* 2011;18:39–48.
- [239] Barreto LCLS, Oliveira FS, Nunes PS, de França Costa IMP, Garcez CA, Goes GM, et al. Epidemiologic Study of Charcot-Marie-Tooth Disease: A Systematic Review. *Neuroepidemiology* 2016;46:157–65.
- [240] Combarros O, Calleja J, Polo J.M, Berciano J. Prevalence of hereditary motor and sensory neuropathy in Cantabria. *Acta Neurol Scand* 1987;75:9–12.
- [241] Lousa M, Vázquez-Huarte-Mendicoa C, Gutiérrez AJ, Saavedra P, Navarro B, Tugores A. Genetic epidemiology, demographic, and clinical characteristics of Charcot-Marie-tooth disease in the island of Gran Canaria (Spain). *J Peripher Nerv Syst* 2019;24:131–8.
- [242] Timmerman V, Strickland A, Züchner S. Genetics of Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease within the frame of the Human Genome Project Success. *Genes* 2014;5:13–32.
- [243] Gess B, Schirmacher A, Boentert M, Young P. Charcot-Marie-Tooth disease: Frequency of genetic subtypes in a German neuromuscular center population. *Neuromuscul Disord* 2013;23:647–51.
- [244] MacMillan J.C, Harper P.S. The Charcot-Marie-Tooth syndrome: clinical aspects from a population study in South Wales, UK. *Clin Genet* 1994;45:128–34.
- [245] Foley C, Schofield I, Eglon G, Bailey G, Chinnery PF, Horvath R. Charcot–Marie–Tooth disease in Northern England. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012;83:572–3.

- [246] Holmberg, BH. Charcot-Marie-Tooth disease in northern Sweden: an epidemiological and clinical study. *Acta Neurol Scand* 1993;87:416–22.
- [247] Vaeth S, Vaeth M, Andersen H, Christensen R, Jensen UB. Charcot-Marie-Tooth disease in Denmark: a nationwide register-based study of mortality, prevalence and incidence. *BMJ Open* 2017;7:e018048.
- [248] Vaeth S, Christensen R, Dunø M, Lildballe DL, Thorsen K, Vissing J, et al. Genetic analysis of Charcot-Marie-Tooth disease in Denmark and the implementation of a next generation sequencing platform. *Eur J Med Genet* 2019;62:1–8.
- [249] Loreface L, Murru MR, Coghe G, Fenu G, Corongiu D, Frau J, et al. Charcot-Marie-Tooth disease: genetic subtypes in the Sardinian population. *Neurol Sci* 2017;38:1019–25.
- [250] Manganelli F, Tozza S, Pisciotta C, Bellone E, Iodice R, Nolano M, et al. Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes in a Southern Italy population. *J Peripher Nerv Syst* 2014;19:292–8.
- [251] Morocutti C, Colazza GB, Soldati G, D'Alessio C, Damiano M, Casali C, et al. Charcot-Marie-Tooth Disease in Molise, a Central-Southern Region of Italy: An Epidemiological Study. *Neuroepidemiology* 2002;21:241–5.
- [252] Marttila M, Kytövuori L, Helisalml S, Kallio M, Laitinen M, Hiltunen M, et al. Molecular Epidemiology of Charcot-Marie-Tooth Disease in Northern Ostrobothnia, Finland: A Population-Based Study. *Neuroepidemiology* 2017;49:34–9.
- [253] Lefter S, Hardiman O, Ryan AM. A population-based epidemiologic study of adult neuromuscular disease in the Republic of Ireland. *Neurology* 2017;88:304–13.
- [254] Nicolaou P, Zamba-Papanicolaou E, Koutsou P, Kleopa KA, Georghiou A, Hadjigeorgiou G, et al. Charcot-Marie-Tooth

- Disease in Cyprus: epidemiological, clinical and genetic characteristics. *Neuroepidemiology* 2010;35:171–7.
- [255] Milley GM, Varga ET, Grosz Z, Nemes C, Arányi Z, Boczán J, et al. Genotypic and phenotypic spectrum of the most common causative genes of Charcot-Marie-Tooth disease in Hungarian patients. *Neuromuscul Disord* 2018;28:38–43.
- [256] Rossor AM, Polke JM, Houlden H, Reilly MM. Clinical implications of genetic advances in Charcot–Marie–Tooth disease. *Nat Rev Neurol* 2013;9:562–71.
- [257] Berciano J. Molecular diagnosis of Charcot–Marie–Tooth disease. *Nat Rev Neurol* 2011;7:305–6.
- [258] Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405–23.
- [259] Sivera R, Sevilla T, Vilchez JJ, Martínez-Rubio D, Chumillas MJ, Vazquez JF, et al. Charcot-Marie-Tooth disease: Genetic and clinical spectrum in a Spanish clinical series. *Neurology* 2013;81:1617–25.
- [260] Garg N, Park SB, Vucic S, Yiannikas C, Spies J, Howells J, et al. Differentiating lower motor neuron syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017;88:474–83.
- [261] Gentile L, Russo M, Fabrizi GM, Taioli F, Ferrarini M, Testi S, et al. Charcot-Marie-Tooth disease: experience from a large Italian tertiary neuromuscular center. *Neurol Sci* 2020;41:1239–43.
- [262] Auranen M, Ylikallio E, Shcherbii M, Paetau A, Kiuru-Enari S, Toppila JP, et al. *CHCHD10* variant p.(Gly66Val) causes axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurol Genet* 2015;1:e1.
- [263] Marchesi, C. Co-occurrence of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2A in a patient with

- novel mutation in the mitofusin-2 gene. *Neuromuscul Disord* 2011;21:129–31.
- [264] Lee YC, Lin KP, Chang MH, Liao YC, Tsai CP, Liao KK, et al. Cellular characterization of *MPZ* mutations presenting with diverse clinical phenotypes. *J Neurol* 2010;257:1661–8.
- [265] Souayah N, Chong PST. Asymmetric phenotype associated with rare myelin protein zero mutation. *J Clin Neuromuscul Dis* 2010;3:110-113.
- [266] Bansagi B, Griffin H, Whittaker RG, Antoniadi T, Evangelista T, Miller J, et al. Genetic heterogeneity of motor neuropathies. *Neurology* 2017;88:1226–34.
- [267] Albulym OM, Zhu D, Reddel S, Kennerson M, Nicholson G. The *MFN2* V705I variant is not a disease-causing mutation: a segregation analysis in a CMT2 family. *J Neurodegener Dis* 2013;2013:1–5.
- [268] Neligan A, Reilly MM, Lunn MP. CIDP: mimics and chameleons. *Pract Neurol* 2014;14:399–408.
- [269] Campagnolo M, Taioli F, Cacciavillani M, Ruiz M, Luigetti M, Salvalaggio A, et al. Sporadic hereditary neuropathies misdiagnosed as chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Pitfalls and red flags. *J Peripher Nerv Syst* 2020;25:19–26.





# **ANEXOS**



## ANEXO I: COMUNICACIONES

### PRIMER AUTOR

**TITULO:** Caracterización genética de la Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth en Galicia

**AUTORES:** García Sobrino Tania; Blanco Arias Patricia; Vidal Lijo Maria Pacífica; Quintáns Beatriz; Sobrido María Jesus; Pardo Fernández Julio.

**FORMATO:** Poster

**CONGRESO:** LXIX Reunión Anual Sociedad Española de Neurología. Valencia. 20-24 noviembre de 2017.

**DICTAMEN DEL COMITÉ CIENTIFICO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA NEUROLOGÍA:**

- **Nombre del beneficiario:** Tania García Sobrino
- **Proyecto objeto del premio:** Premios Reunión Anual SEN.
- **PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN POSTER:**  
"Caracterización genética de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth en Galicia

## ABSTRACT

**INTRODUCCIÓN y OBJETIVOS:** La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es uno de los síndromes neurodegenerativos genéticamente más heterogéneo, con más de 80 genes implicados en su patogenia. El objetivo de este estudio fue evaluar la variabilidad genética del CMT en Galicia.

**MATERIAL y METODOS:** Estudio descriptivo de CMT en población gallega. Incluimos pacientes mayores de 18 años con un diagnóstico clínico y/o neurofisiológico de neuropatía sensitivo-motora hereditaria y pacientes con antecedentes familiares de CMT y un cuadro clínico similar.

**RESULTADOS:** Evaluamos un total de 215 pacientes con CMT (55% mujeres) con una mediana de edad de 48 [39-60] años. En 168 casos (78%) se alcanzó un diagnóstico molecular. El 60% fueron CMT1 y el 20% CMT2. La duplicación en *PMP22* fue el diagnóstico molecular más frecuente (55%) seguido de mutaciones en *MPZ* (11%), *MFN2* (8%), *GJB1* (8%) y *GDAP1* (6%). Las variantes patogénicas más frecuentes implicadas en CMT1, a excepción de la duplicación en *PMP22*, se localizaron en *EGR2*, *NEFL* y *MPZ*. En CMT2, las variantes patogénicas en *GDAP1* y *MFN2* fueron las más frecuentes (70%). Detectamos diversos casos de CMT2 derivados a nuestro centro en los que el diagnóstico fue de una NMH.

Identificamos variantes patogénicas no descritas previamente en *MPZ*, *MFN2*, *GJB1*, *EGR2*, *NEFL* y *SH3TC2*. El 30% de nuestra serie presenta un patrón de herencia autosómico recesivo (AR) o son formas esporádicas.

**CONCLUSIONES:** La epidemiología de CMT en Galicia presenta un patrón de distribución similar al observado en otras poblaciones, destacando un elevado porcentaje de formas esporádicas o de herencia AR y formas CMT2K.



TANIA GARCÍA SOBRINO

**TITULO:** Late-onset axonal charcot-marie-tooth associated with autosomal recessive *MME* mutations

**AUTORES:** Tania García-Sobrino, María Pacífica Vidal-Lijo, Elena Pintos, Vincenzo Lupo, Carmen Espinós, Teresa Sevilla, Julio Pardo

**FORMATO:** Poster

**CONGRESO:** 15th International Congress on Neuromuscular Diseases (ICNMD 2018). Vienna, Austria. 6-10 julio 2018.

## **ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is the most common inherited peripheral neuropathy. The disease onset usually occurs in the first two decades of life and shows a slow progression. Clinically CMT phenotype is characterized by distal weakness, wasting and sensory loss with foot deformities. Axonal CMT (CMT2) with preserved nerve conduction velocities (MMNCV > 38 m/s) are a group of clinically and genetically heterogeneous subtypes. A high rate of CMT2 remain without genetic diagnosis.

In 2016 *MME* mutations were identified in patients with CMT2 linked to an autosomal dominant or autosomal recessive inheritance pattern. We report a family with an autosomal recessive late-onset CMT2 associated with *MME* mutations.

**METHODS:** A 57-year-old man without medical or family history and no consanguinity. He developed a progressive gait disturbance, cramps and distal lower limb weakness with foot drop at the age of 53. Neurological examination revealed pes cavus, gynecomastia, fasciculations and wasting in lower limbs, slight left hand weakness, proximal lower limb weakness (4/5) and distal lower limb weakness (3/5), areflexia and steppage gait. Clinical progression was evident in the first year of evolution and patient associated distal lower limb sensory loss.

**RESULTS:** Laboratory investigations showed a high serum CK (600-1500UI/L). Spinal cord MRI was normal. Nerve conduction study are consistent with an axonal motor neuropathy. Needle electromyography showed acute denervation and fasciculations in lower limbs with reduced recruitment pattern in upper and lower limb muscles. After six month a nerve conduction study revealed an axonal motor and sensory neuropathy. Lower limb muscle MRI showed a bilateral fatty infiltration of the gastrocnemius, soleus and in the anterolateral group. A myopathic and neuropathic pattern was evident in the muscle biopsy. Molecular diagnosis revealed that our patient was a homozygous for the c.466delC mutation in the *MME* gene.

Neurological examination and nerve conduction studies were normal in his relatives. Molecular study revealed that his parents and two sisters were heterozygous for the same mutation in *MME* gene.

**CONCLUSION:** CMT2 are a clinically and genetically heterogeneous group of neuropathies. The screening of *MME* mutations should be performed in patients with late-onset neuropathies with or without a family history in which acquired causes are ruled out and the phenotype is compatible with CMT2.





## ANEXO II: PUBLICACIONES

### RELACIÓN DE PUBLICACIONES INCLUIDAS:

**Phenotypical features of a new dominant *GDAP1* pathogenic variant (p.R226del) in axonal Charcot-Marie-Tooth disease.**

- Publicación: *Neuromuscular Disorders* 27 (2017):667–672
- DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2017.01.008>
- ISSN: 0960-8966
- eISSN: 1873-2364
- Contribución: Primer autor
- Factor Impacto: 3.115
- Factor Impacto (últimos 5 años): 2.913
- Cuartil: Q2
- Año: 2017
- Autorización Editorial: “Please note that as one of the Authors of this article, you retain the right to prepare other derivative works, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal”. “Theses and dissertations which contain embedded final published articles as part of the formal submission can be posted publicly by the awarding institution with DOI links back to the formal publication on ScienceDirect”.

**Distribution and genotype-phenotype correlation of *GDAP1* mutations in Spain.**

- Publicación: Scientific Reports 27 (2017);7(1):6677
- DOI: 10.1038/s41598-017-06894-6
- ISSN: 2045-2322
- Contribución: Coautor, cuarta posición
- Factor Impacto: 3.998
- Factor Impacto (últimos 5 años): 4.567
- Cuartil: Q1
- Año: 2017
- Autorización Editorial: “Authors have the right to reuse their article’s Version of Record, in whole or in part, in their own thesis. Additionally, they may reproduce and make available their thesis, including Springer Nature content, as required by their awarding academic institution. Authors must properly cite the published article in their thesis according to current citation standards”.

**Characterising the phenotype and mode of inheritance of patients with inherited peripheral neuropathies carrying *MME* mutations.**

- Publicación: Journal of Medical Genetics 55 (2018):814-823.
- DOI: 10.1136/jmedgenet-2018-105650
- ISSN: 0022-2593
- eISSN: 1468-6244
- Contribución: Coautor, quinta posición
- Factor de Impacto: 4.943
- Factor Impacto (últimos 5 años): 5.779
- Cuartil: Q1
- Año: 2018
- Autorización Editorial: “The author licence you agreed to when publishing in a BMJ Journal allows you to reproduce this article in your thesis without acquiring permission from BMJ”.



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

Neuromuscular Disorders 27 (2017) 667–672

[www.elsevier.com/locate/nmd](http://www.elsevier.com/locate/nmd)

## Phenotypical features of a new dominant *GDAP1* pathogenic variant (p.R226del) in axonal Charcot-Marie-Tooth disease

Tania García-Sobrino<sup>a,b,\*</sup>, Patricia Blanco-Arias<sup>b,c</sup>, Francesc Palau<sup>d</sup>, Carmen Espinós<sup>e,f</sup>,  
Laura Ramirez<sup>e</sup>, Anna Estela<sup>g</sup>, Beatriz San Millán<sup>h</sup>, Manuel Arias<sup>a,b</sup>, María-Jesús Sobrido<sup>b,c,\*</sup>,  
Julio Pardo<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Department of Neurology, Hospital Clínico, Santiago de Compostela, Spain<sup>b</sup> Neurogenetics Research Group, Instituto de Investigaciones Sanitarias (IDIS), Santiago de Compostela, Spain<sup>c</sup> Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain<sup>d</sup> Institut de Recerca Sant Joan de Déu, CIBERER, Barcelona, Spain<sup>e</sup> Department of Genomics and Translational Genetics, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, Spain<sup>f</sup> Unit for Genetics and Genomics of Neuromuscular and Neurodegenerative Diseases, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, Spain<sup>g</sup> Instituto de Biomedicina de Valencia (CSIC), CIBERER, Valencia, Spain<sup>h</sup> Department of Pathology, Hospital Universitario de Vigo, Spain

Received 17 July 2016; received in revised form 4 January 2017; accepted 11 January 2017

### Abstract

There are few reports on axonal CMT due to dominant *GDAP1* mutations. We describe two unrelated Spanish families with a dominant axonal CMT. A novel in frame GAA deletion in exon 5 of the *GDAP1* gene (c.677\_679del; p.R226del) was identified in both families. Disease onset varied from early childhood to adulthood. Affected family members complained of distal lower limb weakness, cramps and foot deformities with variable CMTNS score in both families. Several individuals were asymptomatic or had paraesthesia only, however neurological examination and nerve conduction studies demonstrated neuropathic signs. Transfection of HeLa cells with the p.R226del mutation led to an increased mitochondrial aggregation. We report an AD-CMT2K with large phenotypic variability due to a novel dominant *GDAP1* variant. This is the second founder *GDAP1* pathogenic variant reported in Spain.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Charcot-Marie-Tooth; CMT2K; *GDAP1* variants; Pathogenic mutation; Hereditary neuropathy

### 1. Introduction

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is the most common hereditary sensory and motor neuropathy. It is characterised by slowly progressing weakness, distal muscle atrophy, sensory loss, and foot deformities. According to the electrophysiological features, CMT can be divided into 3 different groups: (1) demyelinating (MNCV < 38 m/s), (2) axonal (MNCV > 38 m/s), or (3) intermediate (MNCV 35–45 m/s). Over 80 genes have been implicated in CMT and the genotype-phenotype relationships are not well understood. While the same phenotype can be caused by different genes, the contrary is also true, and variable CMT phenotypes may be associated

with the same gene [1]. Ganglioside-induced differentiation-associated-protein 1 (*GDAP1*) mutations have been associated most frequently with an autosomal recessive axonal, intermediate or demyelinating forms, characterised by an early onset and a severe phenotype [2]. However, an autosomal dominant axonal CMT (CMT2K) with a later disease onset and a milder phenotype has been described [3]. Herein, we report the clinical and electrophysiological features of a new dominant *GDAP1* pathogenic variant (p.R226del) in two independent Spanish families.

### 2. Patients and methods

We studied two unrelated families originating from different regions of Northern Spain and diagnosed with axonal CMT. Neurological evaluation included extensive medical and family history, physical examination, and electrophysiological tests in the proband and additional family members (pedigree A, individuals A-II:1, A-II:2, A-II:3, A-III:1, and A-III:2; pedigree

\* Corresponding authors. Travesía A Choupana, s/n. 15706, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain. Fax: 981 951098.

E-mail addresses: [ainat.tania@hotmail.com](mailto:ainat.tania@hotmail.com) (T. García-Sobrino); [ssobrido@gmail.com](mailto:ssobrido@gmail.com) (M.-J. Sobrido).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2017.01.008>

0960-8966/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

B, individuals B-I:1, B-II:2, B-II:3, B-II:4, B-II:5, B-II:6, and B-III:1) (Fig. 1). The degree of neurological impairment was determined by the CMT neuropathy score (CMTNS) and divided into mild (CMTNS < 10), moderate (CMTNS 11–20), or severe phenotype (CMTNS 21–36) [4]. Sural nerve biopsy was carried out in the index case of family B (B-II:2).

In the proband from each family (A-III:1 and B-II:2), genetic analysis was carried out through Sanger sequencing of all coding exons and flanking intronic sequences of the following CMT genes: *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *EGR2*, *GDAP1*, *LITAF*, *NEFL*, *MFN2*, *HSPB1*, *HSPB8*, and *RAB7*. Direct sequencing of exon 5 of the *GDAP1* gene was carried out in additional family members (A-II:1, A-II:2, A-II:3, A-III:2, B-I:1, B-II:3, B-II:4, B-II:5, B-II:6, and B-III:1). Suspected variants were assessed in 178 healthy individuals from northwestern Spain and in the most recent database of the ExAC Consortium [5]. Eight microsatellites flanking the *GDAP1* locus were genotyped in affected and unaffected family members through PCR amplification and fragment analysis in an ABI 3730 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

A search for nucleotide variants in the coding regions of the juncophilin-1 (*JPH1*) gene was performed as previously described [6] in the patients B-II:2, B-II:4, B-III:1, and A-III:1. The possible consequences of variants on splicing were investigated using the in silico tool NNSplice.

We analysed the mitochondrial morphology in HeLa cells by transient transfection of wild type and c.677\_679delGAA *GDAP1* constructs, as previously described [7]. The wild-type and mutant *GDAP1* were cloned in the *pCMV-HA* expression vector. Protein overexpression was carried out in 6-well plates by plasmid transfection with FuGENE (Promega, Madison, WI, USA). Immunofluorescence studies were performed 36 h post-transfection. Primary mouse monoclonal antibody anti-HA and rabbit monoclonal anti-Tom20 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) were detected with either anti-mouse or anti-rabbit secondary antibodies coupled to Alexa Fluor 488 or 633 (Molecular Probes, the Netherlands). Sample preparations were mounted in Fluoromount-G (Southern Biotech, Birmingham, AL, USA) and examined using a Leica TSC SP Confocal System (Leica, Wetzlar, Germany).

### 3. Results

#### 3.1. Genetic analyses

A heterozygous in-frame GAA deletion in exon 5 of the *GDAP1* gene was identified in 10 patients (Fig. 1), predictably resulting in a missing arginine at position 226 of the protein (NM\_018972.2:c.677\_679del; NP\_061845:p.R226del). To the best of our knowledge, this variant has not been described previously in the published literature. It was neither present in the ExAC database, nor in 356 chromosomes from Spanish individuals without neuropathy. Microsatellite analysis within the *GDAP1* region identified a common haplotype shared by all mutation carriers of both families and absent in non-carriers (B-II:5) (Fig. 1A,B). No other pathogenic variants were detected in the aforementioned genes.

Mutational analysis of the *JPH1* gene revealed three annotated nucleotide variants in heterozygosis: rs140054578 in B-II:2; rs6981082 in B-II:2 and B-II:4; and rs79004031 in A-III:1. Additionally, a novel change c.1259-68C>T was identified in patients B-II:4 and A-III:1. No *JPH1* changes were observed in B-III:1. No missense or nonsense changes were detected in the *JPH1* gene; rs140054578 is a synonymous variant; rs6981082 and c.1259-68C>T are intronic changes; and rs79004031 is a splice region variant (c.1139 + 6T>G; minor allele frequency: MAF [C]: 0.08). NNSplice predicted that the variant rs79004031 would not affect splicing.

#### 3.2. Clinical features and electrophysiology

Ten patients from two families carrying a heterozygous *GDAP1* p.R226del variant were identified (Fig. 1A,B and Table 1). Symptom onset was at 39.5 (8.5–55.5) years. Distal lower limb weakness, foot deformities, cramps, and an unsteady gait were the most common initial symptoms.

Both index cases (A-III:1 and B-II:2) had onset in childhood, however, with a variable degree of severity in their third decade of life. A-III:1 had a medical history of surgery for foot deformity. Both patients complained of lower limb weakness, muscular atrophy, pes cavus, and clumsiness. When the index cases were in their thirties, a neurological examination showed lower and upper limb weakness (proximal and distal in A-III:1; only distal in B-II:2), areflexia, and peroneal and intrinsic hand muscle atrophy. Sensory loss was evident in the feet and hands. In addition, both probands complained about postural hand tremor. A moderate and mild CMTNS score was evident, respectively (Table 1).

Patient A-II:1 was evaluated at 74 years of age. His medical history revealed degenerative arthrosis and cerebrovascular small vessel disease. He had lower limb wasting, cramps, and paraesthesia starting at 50 years. However, he reported having a somewhat unsteady gait since age 25; thus, disease duration was likely longer. Neurological examination showed proximal upper limb and distal lower limb weakness, areflexia, and peroneal atrophy. All sensory modalities were decreased and he showed a sensory ataxia. He had a severe CMTNS score.

Patient A-II:3 was 72 years old upon examination. While she complained only of leg cramps, clinical examination revealed intrinsic hand and distal lower limb muscle atrophy, mild feet extension weakness, and areflexia. Patients B-II:3 and B-II:4, aged 45 and 43 years, respectively, reported a history of scoliosis since childhood. Their symptoms were very mild, with paraesthesia and leg cramps. Additionally, B-II:4 had a postural hand tremor since her thirties. Clinical examination showed mild toe extension weakness and lower limb areflexia. Abnormal nerve conduction was observed in the lower limbs in both cases. There were four individuals at risk who did not complain of any symptoms (A-III:2, B-I:1, B-II:6, and B-III:1); however, neurological examination disclosed minor signs of neuropathy and nerve conduction studies were abnormal (Tables 1 and 2). Patient B-II:5 did not complain of any symptoms and her neurological examination was normal.

Nerve conduction studies were consistent with an axonal neuropathy (Table 2). Tibial and peroneal compound muscle

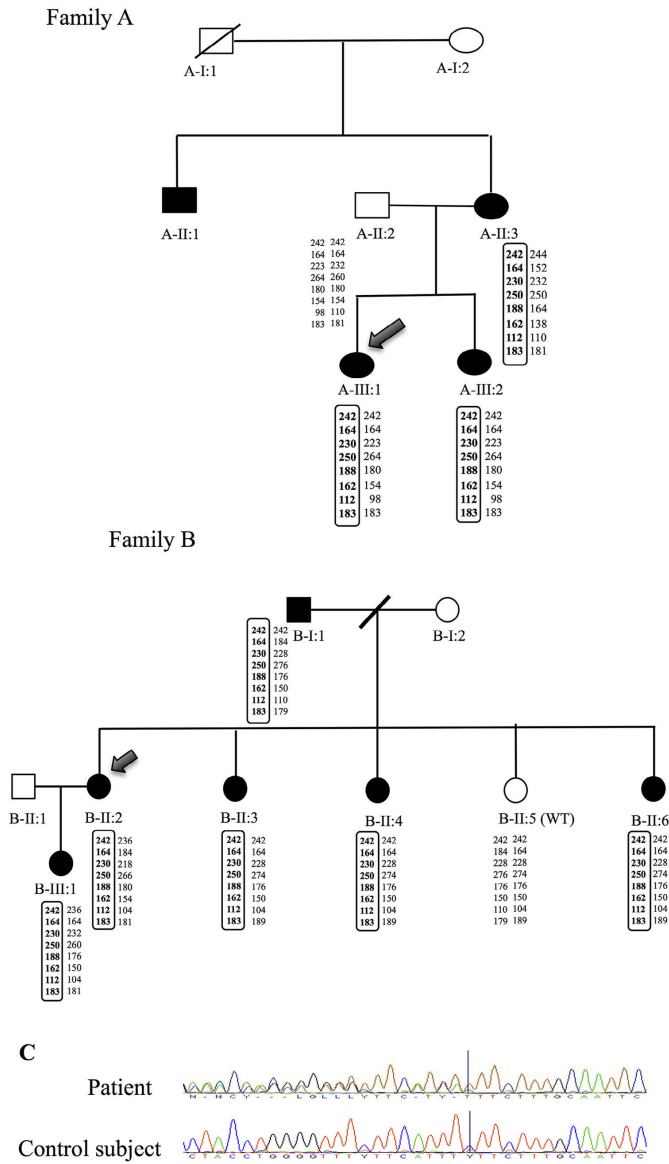


Fig. 1. (A, B) Pedigrees of the two families with dominant *GDAP1* variant (filled black symbols indicate carrier individuals) (WT: wild type). (C) Electropherograms of mutant and control sequences.

Table 1  
Clinical features of two families (A and B) with dominant *GDAP1* variant.

Patient	Sex	Age first symptom	Age	First symptom	Amyotrophy UL/LL	UL/LL weakness	Sensory loss	DTR UL/LL	CMTNS
A-II:1	M	50 (unsteady gait at 25)	74	LL weakness	No/Yes	+/++	Yes/Yes	1/0	21/36
A-II:3	F	72	72	Cramps	Yes/Yes	-/+	No/No	0/0	
A-III:1*	F	9	41	LL weakness	No/Yes	++/++	Yes/Yes	0/0	17/36
A-III:2	F	Asymptomatic	40	Asymptomatic	No/No	-/-	No/No	0/0	
B-I:1	M	Asymptomatic	71	Asymptomatic	No/No	-/-	No/No	2/0	2/36
B-II:2*	F	Childhood	49	Clumsiness, LL weakness	Yes/Yes	++/++	Yes/Yes	1/0	8/36
B-II:3	F	40	45	Paresthesia UL	No/No	-/+	No/No	2/0	2/36
B-II:4	F	39	43	Paresthesia	No/No	-/+	No/No	2/0	2/36
B-II:6	F	Asymptomatic	29	Asymptomatic	No/No	-/-	No/No	2/0	0/36
B-III:1	F	Asymptomatic	23	Asymptomatic	No/No	-/-	No/No	2/2	0/36

Index case (\*). M, male; F, female; LL, lower limbs; UL, upper limbs; weakness (slight, +; moderate, ++; severe, +++); DTR, deep-tendon reflexes (areflexia, 0; hiporeflexia, 1; normal, 2).

action potentials (CMAPs) were reduced in four patients, whereas the median CMAP was abnormal in only one patient. The median nerve sensory potential was normal in most cases. No response was recorded from the sural nerve in any of the patients. Needle electromyography showed positive sharp waves, fibrillation potentials, and chronic denervation in the lower limbs. A sensory and motor axonal neuropathy was evident in four patients (A-II:1, A-III:1, B-I:1, and B-II:2), while an axonal sensory neuropathy limited to the lower limbs was detected in four mildly symptomatic or asymptomatic individuals (B-II:3, B-II:4, B-II:6, and B-III:1) (Table 2).

3.3. Neuropathology and mitochondrial morphology

A sural nerve biopsy performed in patient B-II:2 (Fig. 2A and 2B) showed loss of myelinated fibres, marked reduction of large-diameter fibres, images of axonal degeneration, and groups of regenerating axons. Bands of Büngner – un-innervated proliferating Schwann cells – were present; however, signs of demyelination–remyelination, such as onion bulb formations, were not evident. Morphological mitochondria abnormalities were not found upon examination with the electron microscope.

To test the effect of the pathological mutation on mitochondrial dynamics, we analysed the mitochondrial morphology in HeLa cells by transient transfection of the wild-type (WT) and *GDAP1* c.677\_679delGAA constructions. In order to better understand

the different mitochondrial morphologies found, we defined 5 different patterns according to the physical distribution within the cell: aggregated, tubular, mixed, vesicular, and fragmented. We found that most cells expressing the full-length *GDAP1* mainly showed a fragmented pattern as has been described previously [8]. The effect of the *GDAP1* c.677\_679delGAA pathological mutation expression on mitochondrial dynamics according to our classification was also mostly fragmentation, but a large increase in the aggregated pattern was observed (Fig. 2C).

4. Discussion

In two independent Spanish families with an autosomal dominant axonal CMT, we identified the same, previously unreported, probably pathogenic *GDAP1* variant consisting in an in-frame deletion of a single arginine residue (p.R226del). The clinical picture associated with this variant was of an axonal motor sensory neuropathy with variable onset age. Mildly affected patients and asymptomatic carriers had neurophysiologic impairment of sensory nerves only. This might be due to the natural course of the disease and probably sensory nerves being more vulnerable to the pathologic process [9,10].

Similar to other CMT types, the main symptoms reported by our patients were clumsiness, cramps, foot deformities, and weakness [1,11]. Other manifestations were paraesthesia, lower

Table 2  
Nerve conduction studies in the two AD-CMT2K families.

Patient	Median nerve		Peroneal nerve		Tibial nerve		Median nerve		Sural nerve	
	CMAP	DL/MNCV	CMAP	DL/MNCV	CMAP	DL/MNCV	SNAP	SCV	SNAP	SCV
A-II:1	8.9	3.6/48	3.1	6.0/38.7	0.6	7.3/37.8	NR	NR	NR	NR
A-II:3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
*A-III:1	6.1	3.5/50	1.78	3.3/54	NR	NR	4.15	40	NR	NR
A-III:2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
B-I:1	4.5	4.3/53	1.6	3.7/42	1.9	3.6/45	14.9	43	NR	NR
*B-II:2	6.8	3.8/51	1.3	5.1/48	0.66	5.5/36	14.1	51	NR	NR
B-II:3	12.3	2.8/59	6.05	3.7/48	13.8	3.5/51	22.5	48	NR	NR
B-II:4	16.1	2.4/61	6.2	2.8/52	14.6	2.7/51	14.9	56	4.6	49
B-II:6	12.2	2.6/61	11.5	3.0/61	12.2	2.4/53	31.7	52	NR	NR
B-III:1	6.6	3.5/61	5.15	4.1/57	12.9	4.5/41	32.6	52	3.9	47

CMAP, compound muscle action potential (mV); SNAP, sensory nerve action potential (uv); DL, distal latency (ms); MNCV, motor nerve conduction velocity (m/s); SCV, sensory conduction velocity (m/s); NA, not available; NR, no response.



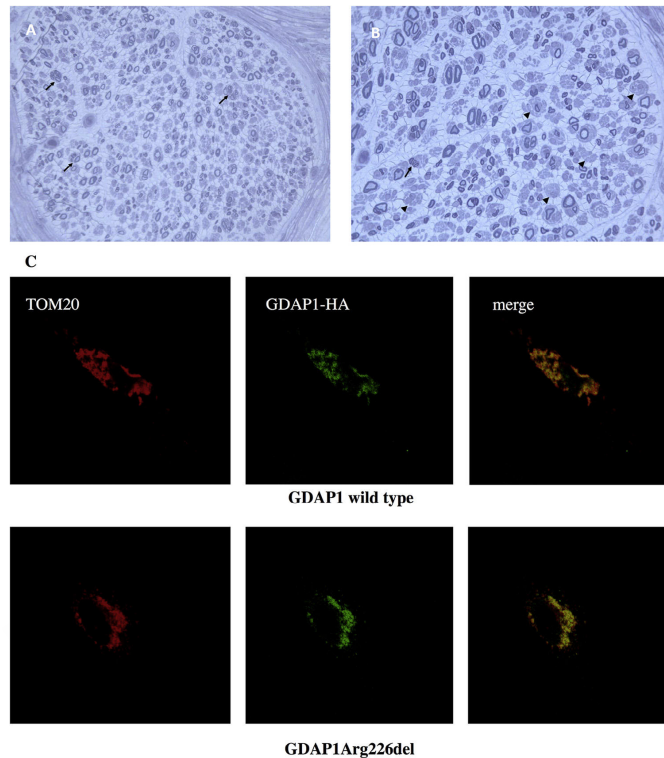


Fig. 2. (A, B) Sural nerve biopsy of patient B-II:2, semi-thin sections. (A) Loss of myelinated fibres and signs of axonal degeneration can be observed. Arrows: groups of axonal regeneration. (B) Arrowheads: bands of Büngner. (C) Mitochondrial morphology analysis of *GDAP1* in HeLa cells. Representative images of either pCMV-HA-*GDAP1* wild-type (upper panels) or pCMV-HA-*GDAP1*c.677\_679delGAA (lower panels). *GDAP1* overexpression showed mitochondrial localisation, as indicated by colocalisation with the mitochondrial marker Tom20, with a predominant mitochondrial fragmented pattern.

limb and hand amyotrophy, pes cavus, and postural tremor. Wasting at the ankle was evident in all symptomatic patients, with heel walk more affected than toe walk, in contrast with patients with the p.R120W mutation [12]. Nerve conduction studies were consistent with an axonal neuropathy with lower limb predominance.

The p.R226del variant showed wide clinical variability, both inter- and intrafamilial, since the manifestations can vary from asymptomatic to moderate and severe phenotype within the same kindred. Furthermore, the identification of four asymptomatic subjects, one of them 71 years old, suggests an incomplete penetrance of the p.R226del variant. Broad phenotypic variability is often observed in other CMT types and can be a feature of other neurodegenerative diseases. The explanation for this variability is mostly unknown and may be due to a

combination of genetic and environmental factors. There were no environmental exposures or other factors that might plausibly contribute to the phenotype variability in the families studied here. While CMTNS was much higher in patient A-II:1 compared to the other patients, his score might be overestimated. This patient had a medical history of cerebrovascular small vessel disease and degenerative arthrosis, both conditions that might negatively influence his neurological evolution. Genetic modifiers help to better understand the clinical variability observed on monogenic neuromuscular disorders [13]. In order to test whether genetic variants in the *JPH1* gene could contribute to phenotype variability, as has been suggested [6], we screened the *JPH1* gene in four patients (B-II:2, B-II:4, B-III:1, and A-III:1) for potentially functional variants. The *JPH1* variants detected in the investigated patients do not seem to be relevant for the

activity of the protein. Two changes are located in introns, one variant is synonymous, and another is a splice region variant, which would not alter the splicing according to the *in silico* prediction. However, we cannot rule out completely that the *JPH1* variants detected do not contribute to the phenotype. Functional studies would be necessary in order to establish if any of these *JPH1* variants actually modify the store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry (SOCE) activity of *GDAP1*. Other genetic or epigenetic factors might be contributing to modify the clinical phenotype.

*GDAP1* belongs to the family of glutathione S-transferases (GSTs) localised in the mitochondrial outer membrane, with a role in the detoxification and reduction of reactive oxygen species (ROS). Autosomal dominant *GDAP1* variants have been shown to induce ROS production and trigger apoptosis [14–16]. The evolutionary conserved arginine residue deleted in our patients is located at the GST domain, a hotspot for CMT2K mutations, including two missense changes at position 226 [17]. It has also been suggested that *GDAP1* has a fundamental role in mitochondrial dynamics, promoting mitochondrial fission. In order to evaluate whether the *GDAP1* deletion could affect mitochondrial dynamics, we evaluated the pattern of mitochondria distribution *in vitro* by fluorescence microscopy. After introducing the p.R226del variant in HeLa cells, we observed that cells with the mutated allele showed a less fragmented, more aggregated pattern, compared to the wild type. This suggests an impairment in the fusion–fission equilibrium of the mitochondrial network, similar to that previously detected with other *GDAP1* variants causing axonal, dominant CMT2 [8]. Niemann et al. suggested that dominant *GDAP1* mutations affect mitochondrial fusion, increase free radical formation, generate unbalanced mitochondrial membrane potentials, and increase susceptibility to apoptosis [14].

All previously reported dominant *GDAP1* mutations were missense variants (p.R120W, p.T157P, p.Q218E, p.C240Y, p.A156G, p.P274L, and p.H123R) [2,12,18–21]. The p.R226del reported here in two Spanish families is the first small in-frame deletion described as probably causal of CMT2K. All individuals carrying the mutation share the same haplotype, suggesting a local founder effect for p.R226del mutation. This implies that screening for this particular variant should be considered in patients with CMT2 if they have Northern Spanish ancestry.

## 5. Conclusion

We report here a novel *GDAP1* variant in two unrelated Spanish families with autosomal dominant axonal motor and sensory neuropathy (AD-CMT2K). Familial co-segregation and evidence of a founder effect together with data indicating a functional effect on mitochondrial pattern strongly suggest that the p.R226del variant is pathogenic. To the best of our knowledge, this is the second founder *GDAP1* pathogenic variant reported in Spain. Screening for *GDAP1* mutations is recommended in axonal CMT, both in families with suspected autosomal recessive or dominant inheritance.

## Acknowledgements

We are grateful to the patients and families who participated in this study. This research received funds from the Galician Health Department (PGIDIT05SAN22PR).

## References

- [1] Rossor AM, Evans MR, Reilly MM. A practical approach to the genetic neuropathies. *Pract Neurol* 2015;15(3):187–98.
- [2] Chung KW, Kim SM, Sunwoo IN, et al. A novel *GDAP1* Q218E mutation in autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *J Hum Genet* 2008;53(4):360–4.
- [3] Claramunt R, Pedrola L, Sevilla T, et al. Genetics of Charcot-Marie-Tooth disease type 4A: mutations, inheritance, phenotypic variability, and founder effect. *J Med Genet* 2005;42(4):358–65.
- [4] Shy ME, Blake J, Krajewski K, et al. Reliability and validity of the CMT neuropathy score as a measure of disability. *Neurology* 2005;64(7):1209–14.
- [5] Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016;536:285–91.
- [6] Pla-Martin D, Calpena E, Lupo V, et al. Junctophilin-1 is a modifier gene of *GDAP1*-related Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mol Genet* 2015;24(1):213–29.
- [7] Pedrola L, Espert A, Wu X, Claramunt R, Shy ME, Palau F. *GDAP1*, the protein causing Charcot-Marie-Tooth disease type 4A, is expressed in neurons and is associated with mitochondria. *Hum Mol Genet* 2005;14(8):1087–94.
- [8] Pedrola L, Espert A, Valdés-Sánchez T, et al. Cell expression of *GDAP1* in the nervous system and pathogenesis of Charcot-Marie-Tooth type 4A disease. *J Cell Mol Med* 2008;12(2):679–89.
- [9] Hofmeijer J, Franssen H, van Schelven LJ, van Putten MJ. Why are sensory axons more vulnerable for ischemia than motor axons? *PLoS ONE* 2013;8(6):e67113.
- [10] Kiernan MC, Mogyoros J, Burke D. Differences in the recovery of excitability in sensory and motor axons of human median nerve. *Brain* 1996;119(Pt4):1099–105.
- [11] Pareyson D, Marchesi C. Diagnosis, natural history, and management of Charcot-Marie-Tooth disease. *Lancet Neurol* 2009;8(7):654–67.
- [12] Sivera R, Espinós C, Vilchez JJ, et al. Phenotypical features of the p.R120W mutation in the *GDAP1* gene causing autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst* 2010;15(4):334–44.
- [13] Lamar KM, McNally EM. Genetic modifiers for neuromuscular diseases. *J Neuromuscul Dis* 2014;1(1):3–13.
- [14] Niemann A, Wagner KM, Ruegg M, Suter U. *GDAP1* mutations differ in their effects on mitochondrial dynamics and apoptosis depending on the mode of inheritance. *Neurobiol Dis* 2009;36(3):509–20.
- [15] Cassereau J, Chevrollier A, Gueguen N, et al. Mitochondrial dysfunction and pathophysiology of Charcot-Marie-Tooth disease involving *GDAP1* mutations. *Exp Neurol* 2011;227(1):31–41.
- [16] Cassereau J, Chevrollier A, Gueguen N, et al. Mitochondrial complex I deficiency in *GDAP1*-related autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease (CMT2K). *Neurogenetics* 2009;10(2):145–50.
- [17] Crimella C, Tonelli A, Airolidi G, et al. The GST domain of *GDAP1* is a frequent target of mutations in the dominant form of axonal Charcot Marie Tooth type 2K. *J Med Genet* 2010;47(10):712–16.
- [18] Zimoń M, Baets J, Fabrizi GM, et al. Dominant *GDAP1* mutations cause predominantly mild CMT phenotypes. *Neurology* 2011;77(6):540–8.
- [19] Auranen M, Ylikallio E, Toppila J, Somer M, Kiuru-Enari S, Tynismaa H. Dominant *GDAP1* founder mutation is a common cause of axonal Charcot-Marie-Tooth disease in Finland. *Neurogenetics* 2013;14(2):123–32.
- [20] Manganelli F, Pisciotto C, Nolano M, et al. A novel autosomal dominant *GDAP1* mutation in an Italian CMT2 family. *J Peripher Nerv Syst* 2012;17(3):351–5.
- [21] Di Maria E, Gulli R, Balestra P, et al. A novel mutation of *GDAP1* associated with Charcot-Marie-Tooth disease in three Italian families: evidence for a founder effect. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75(10):1495–8.

# SCIENTIFIC REPORTS

## OPEN Distribution and genotype-phenotype correlation of *GDAP1* mutations in Spain

Received: 12 April 2017

Accepted: 19 June 2017

Published online: 27 July 2017

Rafael Sivera<sup>1</sup>, Marina Frassetto<sup>2,3</sup>, Vincenzo Lupo<sup>4</sup>, Tania García-Sobrino<sup>5</sup>, Patricia Blanco-Arias<sup>6,7,8</sup>, Julio Pardo<sup>9</sup>, Roberto Fernández-Torrón<sup>9,10,11,12</sup>, Adolfo López de Munain<sup>9,11,12,13</sup>, Celedonio Márquez-Infante<sup>14</sup>, Lilianna Villarreal<sup>14</sup>, Pilar Carbonell<sup>14</sup>, Ricard Rojas-García<sup>8,15</sup>, Sonia Segovia<sup>8</sup>, Isabel Illa<sup>8,15</sup>, Anna Lia Frongia<sup>16</sup>, Andrés Nascimento<sup>8,16</sup>, Carlos Ortez<sup>8,16</sup>, María del Mar García-Romero<sup>17</sup>, Samuel Ignacio Pascual<sup>17,18</sup>, Ana Lara Pelayo-Negro<sup>12,19,20</sup>, José Berciano<sup>12,19,20</sup>, Antonio Guerrero<sup>21</sup>, Carlos Casanovas<sup>22</sup>, Ana Camacho<sup>23,24</sup>, Jesús Esteban<sup>25,26</sup>, María José Chumillas<sup>27</sup>, Marisa Barreiro<sup>3</sup>, Carmen Díaz<sup>28</sup>, Francesc Palau<sup>8,29,30,31</sup>, Juan Jesús Vilchez<sup>2,3,8,32</sup>, Carmen Espinós<sup>4</sup> & Teresa Sevilla<sup>2,3,8,32</sup>

Mutations in the *GDAP1* gene can cause Charcot-Marie-Tooth disease. These mutations are quite rare in most Western countries but not so in certain regions of Spain or other Mediterranean countries. This cross-sectional retrospective multicenter study analyzed the clinical and genetic characteristics of patients with *GDAP1* mutations across Spain. 99 patients were identified, which were distributed across most of Spain, but especially in the Northwest and Mediterranean regions. The most common genotypes were p.R120W (in 81% of patients with autosomal dominant inheritance) and p.Q163X (in 73% of autosomal recessive patients). Patients with recessively inherited mutations had a more severe

<sup>1</sup>Department of Neurology, Hospital Francisc de Borja, Gandía, Spain. <sup>2</sup>Department of Neurology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain. <sup>3</sup>Neuromuscular Research Unit, Instituto de Investigación Sanitaria la Fe (IIS La Fe), Valencia, Spain. <sup>4</sup>Unit of Genetics and Genomics of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders and Service of Genomics and Translational Genetics, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, Spain. <sup>5</sup>Department of Neurology, Hospital Clínico, Santiago de Compostela, Spain. <sup>6</sup>Neurogenetics Research Group, Instituto de Investigaciones Sanitarias (IDIS), Santiago de Compostela, Spain. <sup>7</sup>Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Santiago de Compostela, Spain. <sup>8</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto Carlos III, Ministry of Economy and Competitiveness, Madrid, Spain. <sup>9</sup>Neuromuscular Disorders Unit, Neurology Department, Hospital Donostia, San Sebastián, Spain. <sup>10</sup>The John Walton Muscular Dystrophy Research Centre, Institute of Genetic Medicine, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK. <sup>11</sup>Neuroscience Area, Biodonostia Health Research Institute, San Sebastián, Spain. <sup>12</sup>Center for Biomedical Research in the Neurodegenerative Diseases (CIBERNED) Network, Instituto Carlos III, Ministry of Economy and Competitiveness, Madrid, Spain. <sup>13</sup>Department of Neurosciences, School of Medicine, University of the Basque Country (EHU-UPV), San Sebastián, Spain. <sup>14</sup>Department of Neurology and Neurophysiology, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain. <sup>15</sup>Neuromuscular Diseases Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. <sup>16</sup>Neuromuscular Unit, Neuroepidemiology Department, Hospital Sant Joan de Déu, Fundació Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. <sup>17</sup>Neuropediatrics Department, Hospital la Paz, Madrid, Spain. <sup>18</sup>Department of Pediatrics, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain. <sup>19</sup>Department of Neurology, University Hospital "Marqués de Valdecilla (IDIVAL)", Santander, Spain. <sup>20</sup>University of Cantabria (UC), Santander, Spain. <sup>21</sup>Neuromuscular Diseases Unit, Department of Neurology, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain. <sup>22</sup>Neuromuscular Diseases Unit, Department of Neurology, Hospital Universitari de Bellvitge – IDIBELL, Barcelona, Spain. <sup>23</sup>Child Neurology Unit, Department of Neurology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain. <sup>24</sup>Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Spain. <sup>25</sup>Department of Neurology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain. <sup>26</sup>Department of Neurology, Hospital Riber Internacional, Madrid, Spain. <sup>27</sup>Department of Neurophysiology, Hospital Universitari I Politècnic La Fe, Valencia, Spain. <sup>28</sup>Department of Neurology, Hospital General de Alicante, Alicante, Spain. <sup>29</sup>Institut de Recerca Sant Joan de Déu and Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. <sup>30</sup>Hospital Clínic, Barcelona, Spain. <sup>31</sup>Division of Pediatrics, University of Barcelona School of Medicine and Health Sciences, Barcelona, Spain. <sup>32</sup>Department of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain. Correspondence and requests for materials should be addressed to R.S. (email: rafasivera@gmail.com)

phenotype, and certain clinical features, like dysphonia or respiratory dysfunction, were exclusively detected in this group. Dominantly inherited mutations had prominent clinical variability regarding severity, including 29% of patients who were asymptomatic. There were minor clinical differences between patients harboring specific mutations but not when grouped according to localization or type of mutation. This is the largest clinical series to date of patients with *GDAP1* mutations, and it contributes to define the genetic distribution and genotype-phenotype correlation in this rare form of CMT.

Mutations in the ganglioside-induced differentiation-associated protein 1 (*GDAP1*) gene cause different forms of Charcot-Marie-Tooth disease (CMT). Autosomal recessive mutations have been described in patients with axonal, intermediate and demyelinating forms of the disease, while dominantly inherited mutations cause axonal CMT<sup>1–4</sup>. These mutations are quite rare in Western countries, accounting for less than 1% of the genetically defined CMT patients in most clinical series<sup>5,6</sup>. In contrast, in certain regions of Spain and Italy, these mutations are the most frequent cause of axonal CMT, accounting for up to 10% of the genetic diagnosis in CMT<sup>7–9</sup>.

The *GDAP1* gene encodes a protein belonging to a glutathione S-transferase (GST) enzyme subfamily in chromosome 8q21.1<sup>10</sup>. *GDAP1* is localized in the outer mitochondrial membrane, and is composed of two typical GST domains at the N and C-terminal regions, two alpha loops, a single transmembrane domain, and a hydrophobic domain. Although no GST activity has been demonstrated so far, *GDAP1* is involved in the regulation of mitochondrial dynamics and calcium homeostasis<sup>11,12</sup>.

*GDAP1* autosomal recessive (AR) inherited mutations cause a severe, early onset neuropathy often leading to wheelchair-dependency in the second or third decade. Most of these patients develop unilateral or bilateral vocal cord paresis, and diaphragmatic weakness in the latter stages of the disease<sup>13</sup>. It has been suggested that recessive mutations which cause truncating proteins develop a more severe phenotype, while missense mutations may be associated with a slightly milder course<sup>14</sup>.

On the other hand, autosomal dominant (AD) inherited mutations cause a much milder phenotype, characterized by adult onset, predominantly distal involvement, and slow progression, most of these patients remaining ambulant throughout their lives<sup>15,16</sup>. Certain clinical characteristics, like dysphonia or dysautonomia, have been described in isolated patients, but no clear genotype-phenotype correlation has been established in AD inherited mutations<sup>8,17</sup>.

The aim of the study is to describe the distribution of patients with *GDAP1* mutations across Spain and to expand the knowledge of the clinical course and the genotype-phenotype correlation.

## Results

We identified 99 patients from 46 different families harboring causative *GDAP1* mutations. There was no sex predominance in the series and ages ranged from 3–79 years. There were three patients in which only genetic information was available. Nerve conduction studies were performed in 75 patients while other ancillary tests were less frequently performed: leg muscle magnetic resonance imaging in 22 cases and sural nerve pathology in 15.

**Genotype.** The genetic information is recorded in Table 1. Thirteen different mutations were detected, 3 inherited in an autosomal dominant fashion and the other 10 were recessive. All had been previously reported. The two most common mutations were AD p.R120W, and AR p.Q163X. The type of mutations was quite diverse including 6 missense, 4 nonsense, 2 frameshift mutations and one splice-site variant. They were localized along exons 2–6 and affected the 2 GST domains and the  $\alpha$ -loop predominantly. A schematic diagram of the *GDAP1* protein and the mutations found in this series is reproduced in Fig. 1.

The AD p.R120W was detected predominantly in families near the Mediterranean coast, while p.R226del was found only in two families in the region of Galicia, in the Northwest of Spain (Fig. 2). The AR patients were distributed throughout Spain, but there existed a cluster of affected individuals in the North of Spain, especially in the Basque country and neighboring regions.

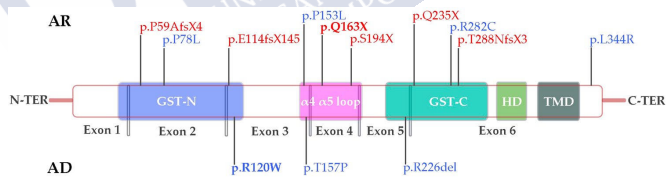
**Clinical characteristics.** The clinical features of the series are summarized in Table 2. Patients were separated between AD and AR inherited mutations because all the severity scores and certain clinical features were different between the groups.

Patients with AD inherited mutations had a mild-moderate neuropathy with variable age of onset (4–65 years). The first symptoms most commonly reported were distal lower leg weakness and cramps (83%). Foot deformities (*pes cavus*, Achilles tendon contracture or hammer toes) were quite common (85.2%), but only one patient presented scoliosis and none dysphonia or respiratory failure. Severity scores were usually between the mild-moderate range, and 28.6% considered themselves asymptomatic. There was important clinical variability regarding severity scores even between family members as can be seen in the pedigree of Fig. 3. Three patients died during follow-up, but the cause of death was not related with the neuropathy.

Patients with AR inherited mutations suffered a severe early onset neuropathy (0–12 years) causing a great disability. Most of the patients were wheelchair-bound before age 20, and only three patients older than 40 years remained ambulant. Dysphonia was present in more than half of the AR patients and appeared usually in the second decade (9–35 years). Respiratory dysfunction was also quite common, and 19.5% of the patients required non-invasive ventilation (29–47 years). Intra-familial variability was not prominent, although most were sporadic patients. Six patients died, two because of cardiovascular events, one of hepatic cirrhosis, and three due to infections that could be related to the severe disability inherent to the disease course.

Nucleotide	Amino acid	Effect	Exon	Domain	Patients	Families	Region	Reference
Dominantly inherited								
c.358 C > T	p.R120W	Missense	3	GST-N	47	15	Widespread	Claramunt R, <i>et al.</i> <sup>4</sup>
c.677_679del	p.R226del	Deletion	5	GST-C	10	2	Galicia	García-Sobрино T, <i>et al.</i> <sup>30</sup>
c.469 A	p.T157P	Missense	3	α-loop	1	1	Asturias	Claramunt R, <i>et al.</i> <sup>4</sup>
Recessively inherited								
c.487 C > T/c.487 C > T	p.Q163X/p.Q163X	Nonsense	4	α-loop	22	15	North of Spain, Basque region	Cuesta A, <i>et al.</i> <sup>1</sup>
c.487 C > T/c.863insA	p.Q163X/p.T288NfsX3	Nonsense/ Frameshift STOP	4/6	α-loop	2	1	Valencia	Cuesta A, <i>et al.</i> <sup>1</sup>
c.487 C > T/c.1031 T > G	p.Q163X/p.L344R	Nonsense/ Missense	4/6	α-loop	1	1	Cadiz	Sivera R, <i>et al.</i> <sup>7</sup>
c.487 C > T/c.581 C > G	p.Q163X/p.S194X	Nonsense	4/5	α-loop	4	2	Valencia, Asturias	Cuesta A, <i>et al.</i> <sup>1</sup>
c.487 C > T/c.342_345del	p.Q163X/p.E114fsX145	Nonsense	4/3	α-loop / GST-N	1	1	Pais Vasco	Claramunt R, <i>et al.</i> <sup>4</sup>
c.581 C > G/c.863insA	p.S194X/p.T288NfsX3	Nonsense/ Frameshift STOP	5/6	α-loop	2	2	Valencia	Claramunt R, <i>et al.</i> <sup>4</sup>
c.172_173delinsTTA/c.311-1 G > A	p.P59AfsX4/splicing variant	Frameshift STOP/ No effect	2/int 2	GST-N	1	1	Alicante	Sevilla T, <i>et al.</i> 2008 <sup>13</sup>
c.844 C > T/c.844 C > T	p.R282C/p.R282C	Missense	6	GST-C	2	1	León	Nelis E, <i>et al.</i> <sup>31</sup>
c.863insA/c.863insA	p.T288fsX3/p.T288fsX3	Frameshift STOP	6	α-loop	1	1	Valencia	Cuesta A, <i>et al.</i> 2002 <sup>1</sup>
c.703 C > G/c.703 C > G	p.Q235X/p.Q235X	Nonsense	6	GST-C	1	1	Baleares	Ortez C, <i>et al.</i> <sup>32</sup>
c.458 C > T/c.458 C > T	p.P153L/p.P153L	Missense	3	α-loop	2	1	Ávila	Kabzinska D, <i>et al.</i> <sup>33</sup>
c.233 C > T/c.233 C > T	p.P78L/p.P78L	Missense	2	GST-N	2	1	Madrid/ Morocco	Bouhuche A, <i>et al.</i> <sup>34</sup>

**Table 1.** Genotype distribution and effects. GST-N: glutathione S-transferase domain in the N-terminal region, GST-C: glutathione S-transferase domain in the C-terminal region.



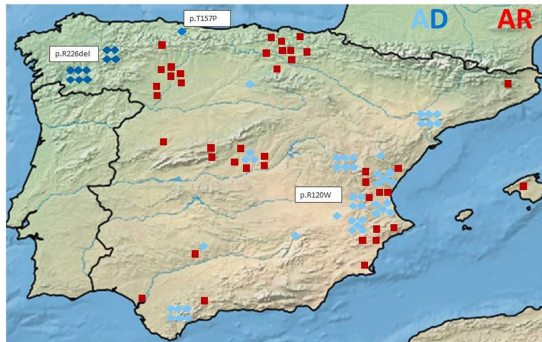
**Figure 1.** Localization in the *GDAP1* gene of the mutations detected. AD: Autosomal dominant, AR: Autosomal recessive, in blue: missense mutations, in red: truncating mutations.

**Nerve conduction studies.** The electrophysiological findings are detailed in Table 3. In AD patients there was a decrease of CMAP and SNAP amplitudes with normal conduction velocities, corresponding to a mild axonal motor and sensory neuropathy. Of the 12 clinically asymptomatic patients that underwent nerve conduction studies, in 8 we detected a decrease in SNAP of the sural nerve and/or CMAP of the peroneal nerve. The other 4 asymptomatic patients had normal nerve conduction studies, but 3 of them had detectable abnormalities in needle electromyography (large polyphasic motor unit action potentials in distal lower limb muscles with no spontaneous muscular activity), while it was not performed in the other patient.

In AR patients the decrease in CMAP and SNAP was much more marked, as were the number of nerves that were unexcitable when explored. These findings were more severe in the lower limb nerves; in fact all patients over 25 years had unexcitable sural and peroneal nerves. Conduction velocities were generally not reduced except in nerves with very low amplitudes (Fig. 4b). In these cases, when conduction velocity was measured to proximal muscles, it was always within the normal range.

**Muscle magnetic resonance imaging.** Lower limb muscle magnetic resonance imaging findings are detailed in Table 4, and representative images are shown in the supplementary Figure S1. It was performed in 22 patients, 19 of them harboring the AD p.R120W mutation. In those patients the findings were in concordance with that previously reported including fatty infiltration with a distal to proximal gradient<sup>16</sup>. In 3/5 clinically asymptomatic patients, there was detectable fatty substitution in the intrinsic foot muscles and in 2/5 also in the





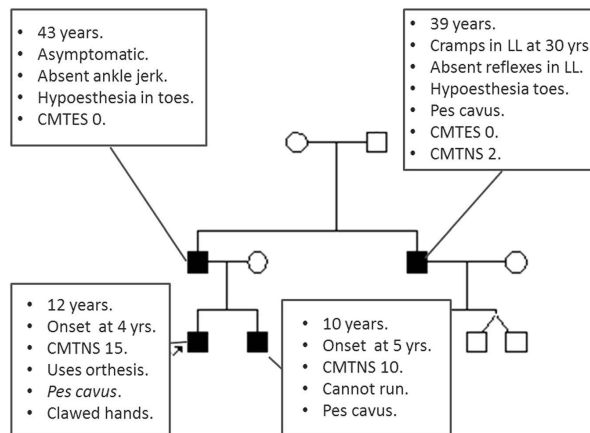
**Figure 2.** Patient distribution throughout Spain AD: Autosomal dominant, AR: Autosomal recessive, light blue diamond: patient with the AD p.R120W mutation, dark blue diamond: patient with the AD p.R226del mutation, medium blue diamond: patient with the AD p.T157P mutation, red square: patient with AR mutations. The map was created with SimpleMappr, an online tool to produce publication-quality point maps. [Retrieved from <http://www.simplemappr.net>. May 24, 2017]; Shorthouse, David P. 2010.

	AD inheritance	AR inheritance	Total
n	58	41	99
families	18	28	46
Sex (M/F)	25/33	24/17	49/50
Age at 1st visit	42.1 yrs (8–79)	27.2 yrs (3–54)	36.4 yrs
Follow up <sup>a</sup>	7 yrs	9.9 yrs	8.4 yrs
Age of independent walking <sup>b</sup>	12 months	15.2 months	13.3 months
Age of onset <sup>c</sup> (range)	23.8 yrs (4–65)	2.5 yrs (0–12)	13.4 yrs
Asymptomatic (%)	16 (28.6%)	0 (0%)	16 (16.7%)
Sensory symptoms	32 (57.1%)	30 (76.9%)	62 (65.3%)
Motor symptoms	36 (64.3%)	39 (100%)	75 (78.9%)
Autonomic symptoms	0	7 (18.4%)	7 (7.4%)
CMTNS <sup>d</sup>	7.3 (0–26)	22 (8–32)	13.6
CMTES <sup>e</sup>	4.6 (0–21)	15.8 (4–23)	8.9
FDS <sup>f</sup>	1.3 (0–6)	5.2 (2–7)	2.8
Wheelchair-bound (%)	0	30 (75%)	30 (30.9%)
Age wheelchair (yrs)	NA	15.1 (7–52)	15.1 (7–52)
Distal deformities (%)	46 (85.2%)	35 (92.1%)	81 (88%)
Dysphonia (%)	0	22 (56.4%)	22 (23.7%)
Respiratory failure (%)	0	21 (52.5%)	21 (21.2%)
Scoliosis (%)	1 (1.9%)	22 (56.4%)	23 (23.7%)
Death (%)	3 (5.2%)	6 (14.6%)	9 (10%)
Age of death <sup>g</sup> (yrs)	72 (64–82)	55.7 (42–71)	61.1 (42–82)

**Table 2.** Clinical characteristics. <sup>a</sup>Mean values, AD: Autosomal dominant, AR: Autosomal recessive, yrs: years, CMTNS: Charcot-Marie-Tooth neuropathy score, CMTES: Charcot-Marie-Tooth examination score, FDS: functional Disability Scale, yrs: years, NA: Not applicable. For the % values only the patients with available information were included.

muscles of the calf. In the 2 asymptomatic patients with normal muscle MRI, the muscles of the feet were not studied. In the calf, the muscles of the posterior compartment (soleus > gastrocnemius) were affected earlier and more severely than those of the anterolateral compartment.

MRI was performed in two patients with the AD p.R226del mutation. In one symptomatic patient there were detectable abnormalities consisting in fatty infiltration with a distal to proximal gradient, and the same posterior > anterolateral pattern in the calf. The other was asymptomatic, although minor abnormalities could be detected in the clinical examination. The muscle MRI in this patient was normal in the calf and thigh muscles, but the feet were not studied.



**Figure 3.** Clinical variability in a family harboring the AD p.R120W mutation. yrs: years, LL: Lower limbs, CMTNS: Charcot-Marie-Tooth neuropathy score, CMTES: Charcot-Marie-Tooth examination score.

One patient with an AR p.Q163X/p.L344R mutation also underwent muscle MRI testing. He was the AR patient with the less severe phenotype (CMT neuropathy score - CMTNS: 12, Functional disability score - FDS: 2, age 49 at the time of the MRI) and there was complete fatty substitution of the muscles in the feet and posterior compartment of the calf, but in the anterolateral muscles of the calf and the thigh muscles, fatty infiltration was only partial.

**Nerve pathology.** Sural nerve biopsy was performed in 15 patients, 8 with AR and 7 with AD inherited mutations. Representative images are shown in the supplementary Figure S1. The pathologic characteristics of 7 of these patients had been previously been reported, and are similar to the other 8 patients<sup>1,16,18</sup>. The main findings were concordant with an axonal neuropathy (depletion of myelinated fibers, myelin thinning, and rather frequent regenerative clusters) with minor myelin abnormalities (abnormal myelin foldings and occasional onion bulb-like formations). The fiber loss was especially prominent in AR patients.

**Genotype-phenotype correlation.** The most important genetic factor that influenced the phenotype was the mode of inheritance. Certain clinical features like the presence of dysphonia and respiratory dysfunction were only present in patients with AR inheritance and scoliosis was more frequent in patients with AR inheritance ( $p < 0.001$ ) (Table 2). In this group, 75% of the patients were wheelchair-bound at a median age of 15 years. By contrast none in the group of AD inheritance lost ambulation with a median follow-up of nearly 7 years. The presence of any kind of neuropathic symptoms was more frequent in patients with AR inheritance, as were higher severity scores in any of the scales employed ( $p < 0.05$ ). In Fig. 4a the CMTNS scores of the first examination in both groups can be compared. With a logistic regression model, the only co-variables that could independently predict a higher CMTNS score were the mode of inheritance: OR 38, CI 95% [4–474.2] and the disease duration OR 1.1 CI 95% [1.05, 1.19].

Regarding the patients with AD inheritance, we detected minor clinical differences between the two most frequent mutations. The members of the two families with the p.R226del mutation had a slightly milder disease course. Also, in the p.R120W mutation ankle extensors and flexors were affected to a similar degree (3.9 and 3.7 mean MRC scores respectively) while in those with the p.R226del mutation weakness was more marked in ankle extension (4.3 and 4.7 mean MRC scores).

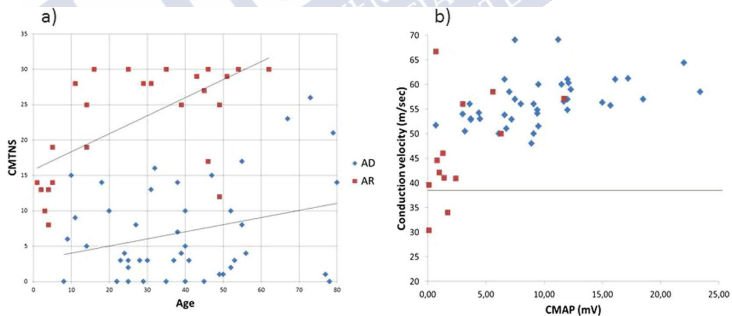
In the patients with AR inherited mutations no clinical differences could be detected when grouping patients according to localization of the mutation or mutation type. Neither could we detect any statistically significant difference in age of onset, years to wheelchair, or other severity scores between patients with 'truncating' mutations and those with two missense mutations. In patients with the same mutation, clinical variability regarding severity was not prominent. Regarding specific mutations, the only two patients with the homozygous p.R282C mutation seemed to have a milder clinical course, as did the only patient compound heterozygous for the p.Q163X and p.L344R mutations.

## Discussion

This multicentric cross-sectional study provides information about 99 patients with CMT caused by *GDAP1* mutations. In Spain the relative frequency of *GDAP1* mutations has been reported to be as high as 13% of the genetically defined CMT in certain regions<sup>7</sup>. Patients in this series were distributed throughout Spain, and in

	AD inheritance	AR inheritance	Total
n	48	28	76
Age NCS*	38.5 yrs (8–82)	20.2 yrs (2–48)	30.8 yrs
Disease course NCS*	18 yrs	17.3 yrs	17.6 yrs
Ulnar CMAP*	10.7 mV (0.9–20.6)	3.8 mV (0.1–9.1)	9.5 mV
Ulnar MCV*	58.4 m/s (47.3–68)	43.9 m/s (42–57.6)	55.4 m/s
% Unexcitable	0/27 (0%)	12/19 (63.2%)	12/46 (26.1%)
Median CMAP*	9.7 mV (3.2–23.4)	2 mV (0.4–11.7)	7.6 mV
Median MCV*	56.6 m/s (48–69.1)	42 m/s (30.4–66.7)	53.4 m/s
% Unexcitable	0/39 (0%)	11/23 (47.8%)	11/64 (17.2%)
Peroneal CMAP*	4.8 mV (0.3–11.9)	0.5 mV (0.3–0.6)	4.5 mV
Peroneal MCV*	44.8 m/s (38–61)	40.1 m/s (40.1)	44.7 m/s
% Unexcitable	7/47 (14.9%)	18/20 (90%)	25/67 (37.3%)
Ulnar SNAP*	10.7 μV (1.4–27)	2.1 μV (0.2–6.1)	8.5 μV
Ulnar SCV*	48.4 m/s (34.7–64.7)	46.1 m/s (34.3–55.7)	47.8 m/s
% Unexcitable	2/22 (9.1%)	8/14 (57.1%)	10/36 (27.8%)
Median SNAP*	11.4 μV (1.6–32.6)	3.5 μV (0.2–16)	9.2 μV
Median MCV*	47.7 m/s (36.3–65.1)	40.8 m/s (30.4–53)	45.7 m/s
% Unexcitable	4/39 (10.3%)	14/26 (53.8%)	18/65 (27.7%)
Sural SNAP*	5.5 μV (0.7–13.9)	4.8 μV (2.6–7.2)	5.5 μV
Sural SCV*	43.1 m/s (29–65.9)	46.8 m/s (43.9–49.6)	43.4 m/s
% Unexcitable	18/46 (39.1%)	19/22 (86.4%)	37/68 (54.4%)

**Table 3.** Motor and sensory nerve conduction studies. \*Mean values, AD: Autosomal dominant, AR: Autosomal recessive, NCS: Nerve conduction studies, CMAP: Compound muscle action potential, MCV: motor conduction velocity, SNAP: Sensory nerve action potential, SCV: sensory conduction velocity, yrs: years, mV: millivolts, μV: microvolts. For the % values only the patients with available information were included.



**Figure 4.** (a) Dispersion chart of the CMTNS scores and ages in the first examination of patients with AD and AR inherited mutations. (b) Dispersion chart of the CMAP of the median nerve the motor conduction velocity in patients with AD and AR inherited mutations. AD: Autosomal dominant, AR: Autosomal recessive, CMTNS: Charcot-Marie-Tooth neuropathy score, CMAP: Compound muscle action potential.

most centers comprised the first cause of CMT2, excluding *GJB1* mutations. This contrasts with the scarcity of these mutations in most Western Countries, accounting for less than 2% of the genetically defined patients in series from the United Kingdom, Germany, United States, and also in the cohort of patients from the Inherited Neuropathies Consortium<sup>5, 6, 19, 20</sup>. On the other hand, there have been reports of regional Italian clinical CMT series that found frequencies of *GDAP1* mutations of > 7%, and after analyzing a group of patients referred to the Medical Genetics Unit of the University of Genoa, the authors conclude that *GDAP1* mutations should be the first genetic diagnosis to be considered in an Italian patient with CMT2<sup>8, 9</sup>. Further information about the relative frequency of *GDAP1* mutations in the South of France and other countries of the Mediterranean coastline (Greece, Turkey, Morocco, etc.) will be needed to clarify the geographical distribution of these mutations.



Genotype	Age	Disease course (years)	CMTNS	IFM	Soleus	Gastrocnemius	DPC	AC	LC	Thigh
p.R120W	71	A	0*	2	2	2	4	4	4	NP
p.R120W	51	A	1*	NP	0	0	0	0	0	NP
p.R120W	50	5	2*	NP	0	0	0	0	0	NP
p.R120W	23	3	3	3	2	3	0	0	1	NP
p.R120W	37	A	3	3	0	0	0	0	0	NP
p.R120W	49	10	4*	3	2	2	0	0	0	NP
p.R120W	56	A	4	NP	0	0	0	0	0	NP
p.R120W	52	34	4*	4	4	4	1	2	2	NP
p.R120W	40	A	5	2	1	1	0	0	0	NP
p.R120W	38	6	7	3	1	2	0	0	1	NP
p.R120W	27	21	8	NP	4	4	0	1	0	1
p.R120W	68	18	9	4	4	4	2	3	3	1
p.R120W	24	12	10	2	1	1	0	0	0	NP
p.R120W	20	6	10	4	4	4	2	3	3	3
p.R120W	32	23	11*	4	3	4	0	1	1	NP
p.R120W	58	43	11*	4	4	3	3	1	2	2
p.R120W	31	18	13	4	3	3	2	2	3	NP
p.R120W	55	50	17	4	4	4	4	4	4	3
p.R120W	73	48	26	4	4	4	3	4	3	3
p.R226del	55	50	8	3	4	3	3	2	2	2
p.R226del	45	A	2	NP	0	0	0	0	0	0
p.Q163X/p.L344R	49	37	12	4	4	4	4	3	3	3

**Table 4.** Muscle magnetic resonance imaging of the lower limbs. CMTNS: Charcot-Marie-Tooth neuropathy score, IFM: Intrinsic foot muscles, DPC: Deep posterior compartment of the calf, AC: Anterior compartment of the calf, LC: Lateral compartment of the calf, A: Asymptomatic, \*CMTES score values, NP: Not performed.

In Spain, the high frequency of *GDAP1* mutations among CMT2 patients is in part due to the high frequency of two mutations. The p.R120W substitution accounted for 81% of AD patients and was detected mostly in the Mediterranean basin, while p.Q163X was detected either as a homozygous or compound heterozygous mutation in 73.2% of AR patients, especially in the North/Northwest of Spain. Both of these mutations had been studied previously with haplotype analysis and postulated as having a founder effect in the region, although they have been detected in families in other European and American countries<sup>1, 16, 21</sup>.

Regarding the phenotype, the most important factor that influences the clinical characteristics of these patients is the mode of inheritance (Table 2). The patients with AR inherited mutations have a more severe course and certain clinical features like dysphonia and respiratory dysfunction were exclusively found in this group<sup>15, 18</sup>. In fact when the CMTNS scores of the series were modeled with a logistic regression analysis, the only factor that could independently predict higher CMTNS scores apart from disease evolution was AR inheritance. Although AR patients had a more severe course as a group, there existed a certain overlap between the severity scores when grouped by the inheritance pattern (Fig. 4a).

For example, there were two AR patients with a milder phenotype than the rest of the cohort (CMTNS scores of 12 and 16 at ages 49 and 46 respectively). The latter is still ambulant with crutches at 56 years of age, and harbors the homozygous missense p.R282C change. This mutation has only been detected in him and his sister, who has a slightly more severe phenotype and became wheelchair-bound only at age 52. The other patient was a compound heterozygous for p.Q163X and p.L344R, and remained ambulant with orthosis until his death due to hepatic cirrhosis at age 55. Even taking into account these outliers, when the clinical characteristics or severity scores were compared according to the localization of the mutation or mutation type, no differences could be established. It has been reported that patients with two 'truncating' mutations have a more severe phenotype than those with two missense mutations, but when we compared age of onset, years to wheelchair or other impairment scores we could not replicate these findings<sup>14</sup>.

In patients with AD inheritance, phenotypic variability regarding severity was prominent, even within affected members of the same family. There are three AD patients with a severe neuropathy according to CMTNS, one of them needing a walker for ambulation; while 28.6% considered themselves asymptomatic, two of them older than 70 years. The factors that influence this variability are largely unknown, but the search for genetic modifiers in this disease led to the detection of a concomitant *junctophilin-1* (*JPH1*) change which modified *GDAP1* function in one of the families with the p.R120W mutation included in this series<sup>22</sup>. *JPH1* substitutions have been detected in two other families, one of them is represented in Fig. 3 where the moderately affected siblings have inherited a change in *JPH1* from their mother, and the p.R120W *GDAP1* mutation from their practically asymptomatic father (in press). In any case, important clinical variability can be found in at least 6 other families with the p.R120W mutation and no concomitant changes in *JPH1* have been detected.

Minor differences could be established between the phenotype in the p.R226del and p.R120W mutations but these have to be interpreted in the context of the clinical variability inherent to this disease. In the p.R120W

mutation ankle flexion weakness could be detected as soon as ankle extension weakness, and fatty substitution predominated in the posterior compartment of the calf, while in the p.R226del mutation the MRI findings were similar in the symptomatic patient, but in the clinical examination ankle extension weakness predominated. In any case the description of more patients will be necessary to confirm these findings.

Autosomal dominant *GDAP1* mutations have been described as having an incomplete penetrance, but in this series all asymptomatic patients had detectable abnormalities in clinical examination or ancillary testing except one. Of the 16 asymptomatic patients 9 had abnormalities in the examination, 11/12 in the electrophysiological studies and 3/6 in the MRI. The only patient that had normal examination and ancillary tests did not undergo needle electromyography or feet MRI, which are the most sensitive tests in this series. This is in keeping with the findings in the Italian p.Arg120Gly mutation where the phenotypic variability mimicked a reduced penetrance, but electrophysiological studies were unequivocally abnormal in affected patients<sup>23</sup>.

These findings enhance the complexity of the clinical phenotype and of predicting the clinical course in *GDAP1* mutations. This last can be especially challenging, but is necessary for the development of future clinical trials. In this regard there are several considerations that are important in this CMT subtype. In AR patients the severity of the phenotype determined that the scales employed could not adequately assess disease progression except in the first or second decade, as afterwards there was a clear ceiling effect in both the CMTNS and FDS scales. In these patients ancillary testing could contribute scarcely as MRI of the lower limbs was affected to a great degree and the rate of change in these patients would be difficult to interpret. In AD patients, apart from the intra-familial variability, the analysis of the available longitudinal information shows that the change rate of CMTNS per year in one same patient can be quite variable (data not shown). The responsiveness to change probably could be improved if the CMTNS version 2, or the Rasch-weighted CMTNS version 2 scores had been used, but this was impossible as radial nerve conduction studies were available for only a minority of the patients<sup>24</sup>. In any case, taking into account the rarity of this CMT subtype, and the intra-familial variability, more objective measures of disease progression will be necessary, like the MRI biomarkers that have already been developed for CMT1A<sup>25</sup>.

This is the largest clinical series of CMT patients with *GDAP1* mutations and it contributes to expand the knowledge of the genetic distribution and genotype-phenotype correlation of this disease.

## Methods

**Subjects.** This cross-sectional retrospective observational study included all CMT patients with causative *GDAP1* mutations evaluated at 14 centers throughout Spain during the 2000–2016 timeframe. 74 Patients were selected from a nationwide register of hereditary neuropathies including 1405 patients, 307 of them defined as CMT2. This registry was developed in 2012 being part of the Spanish Registry of Neuromuscular Diseases project (NMD-ES). After a call for patients in the Neuromuscular Work Group of the Spanish Neurology Society (SEN), 25 other patients were identified. All patients included have signed an informed consent form specific for the NMD-ES registries which was approved by the Ethics Committee of the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Genetic, demographic, clinical, electrophysiological, and pathologic information was evaluated. Only genetically confirmed patients were included. All experiments were performed in accordance with relevant guidelines and regulations.

**Mutational analysis.** Mutation analysis of the *GDAP1* gene (NM\_018972.2) was performed mostly in the same center as previously described using an Applied Biosystems 3730xl DNA analyzer (Foster City, CA, USA)<sup>1</sup>. To investigate the novelty of the identified variants, the following databases were consulted: dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>), ESP6500 (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>), ExAC (<http://exac.broadinstitute.org/>), and CSVS (<http://csvs.babelomics.org/>). In silico analysis was performed to predict the pathogenicity of the novel variants, using SIFT (<http://sift.bii.a-star.edu.sg/>) and PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) algorithms for missense changes and NNSPLICE v0.9 ([http://www.fruitfly.org/seq\\_tools/splice.html](http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html)) for splicing alterations. Whenever possible, segregation analysis was performed.

**Clinical assessments.** A standardized history and symptom questionnaire was employed to collect the basal information. Clinical examinations included strength using the standard Medical Research Council (MRC) scale, pinprick and vibratory sensory loss, reflexes, as well as a general and neurologic examination. Severity of the neuropathy was evaluated with the CMT neuropathy score version 1 (CMTNSv1) as a significant proportion of these patients had not undergone the neurophysiologic radial nerve testing which is mandatory for the CMTNS version 2<sup>26,27</sup>. The CMT examination score (CMTES) was used for patients without nerve conduction studies. The functional disability scale (FDS), which grades the functional impairment from 0–8, was used to measure the disability status<sup>28</sup>. Respiratory dysfunction was defined by standard spirometry values in each center.

**Nerve conduction studies.** Motor and sensory nerve conduction velocities (NCVs) were performed using standard techniques. Temperature was controlled during the procedure and kept at more than 32 °C. Compound muscle action potential amplitudes (CMAP), sensory nerve action potential amplitudes (SNAP), conduction velocities and distal latencies were recorded.

**Muscle magnetic resonance imaging (MRI).** MRI was performed on the feet and distal legs. The protocol employed was the same as described previously, and fatty substitution was graded from 0 to 4 as follows: 0, no fat signal in muscle; 1, some fatty streaks; 2, fat occupying a minor part of muscle; 3, similar amount of fat and muscle tissue; 4, fat occupying the greater part of muscle<sup>16,29</sup>. The muscles in the calf were grouped according to 4 anatomical compartments: anterior compartment (*tibialis anterior*, *extensor hallucis longus*, and *extensor digitorum longus*), lateral compartment (*peronei longus* and *brevis*), superficial posterior compartment (*soleus* and *gastrocnemius*), and deep posterior compartment (*tibialis posterior*, *flexor digitorum longus*, and *flexor hallucis longus*).

**Nerve pathology.** Sural nerve biopsy was performed before the genetic diagnosis was confirmed, or for investigational reasons after specific informed consent. Sections were evaluated under a light microscope, and morphometric data was analyzed when available<sup>18</sup>.

**Statistical studies.** Patient characteristics, data from clinical examination, electrophysiological, examination and physical disability were analyzed using descriptive statistics with the program R (version 3.3.3), the ordinal package (version 2015.6–28) and brglm (0.5–9). A logistic regression model was developed to determine the co-variables that could predict a higher CMTNS score.

**Data Availability.** The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## References

- Cuesta, A. *et al.* The gene encoding ganglioside-induced differentiation-associated protein 1 is mutated in axonal Charcot-Marie-Tooth type 4A disease. *Nat. Genet.* **30**, 22–25 (2002).
- Senderek, J. *et al.* Mutations in the ganglioside-induced differentiation-associated protein-1 (GDAP1) gene in intermediate type autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain*. **126**, 642–649 (2003).
- Baxter, R. V. *et al.* Ganglioside-induced differentiation-associated protein-1 is mutant in Charcot-Marie-Tooth disease type 4A/Rq21. *Nat. Genet.* **30**, 21–22 (2002).
- Claramunt, R. *et al.* Genetics of Charcot-Marie-Tooth disease type 4A: mutations, inheritance, phenotypic variability, and founder effect. *J. Med. Genet.* **42**, 358–365 (2005).
- Fridman, V. *et al.* CMT subtypes and disease burden in patients enrolled in the Inherited Neuropathies Consortium natural history study: a cross-sectional analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. **86**, 873–878 (2015).
- Gess, B., Schirmacher, A., Boentert, M. & Young, P. Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes in a German neuromuscular center population. *Neuromuscul. Disord.* **23**, 647–651 (2013).
- Sivera, R. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease: genetic and clinical spectrum in a Spanish clinical series. *Neurology*. **81**, 1617–1625 (2013).
- Manganelli, F. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes in a Southern Italy population. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **19**, 292–298 (2014).
- Pezzini, I. *et al.* GDAP1 mutations in Italian axonal Charcot-Marie-Tooth patients: Phenotypic features and clinical course. *Neuromuscul. Disord.* **26**, 26–32 (2016).
- Marco, A., Cuesta, A., Pedrola, L., Palau, F. & Marín, J. Evolutionary and structural analyses of GDAP1, involved in Charcot-Marie-Tooth disease, characterize a novel class of glutathione transferase-related genes. *Mol. Biol. Evol.* **21**, 176–187 (2004).
- Niemann, A., Ruegg, M., La Padula, V., Schenone, A. & Suter, U. Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Cell Biol.* **70**, 1067–1078 (2005).
- Pla-Martin, D. *et al.* Silencing of the Charcot-Marie-Tooth disease-associated gene GDAP1 induces abnormal mitochondrial distribution and affects Ca<sup>2+</sup> homeostasis by reducing store-operated Ca<sup>2+</sup> entry. *Neurobiol. Dis.* **55**, 140–151 (2013).
- Sevilla, T. *et al.* Vocal cord paresis and diaphragmatic dysfunction are severe and frequent symptoms of GDAP1-associated neuropathy. *Brain*. **131**, 3051–3061 (2008).
- Cassereau, J. *et al.* Mitochondrial dysfunction and pathophysiology of Charcot-Marie-Tooth disease involving GDAP1 mutations. *Exp. Neurol.* **227**, 31–41 (2011).
- Zimón, M. *et al.* Dominant GDAP1 mutations cause predominantly mild CMT phenotypes. *Neurology*. **77**, 540–548 (2011).
- Sivera, R. *et al.* Phenotypical features of the p.R120W mutation in the GDAP1 gene causing autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **15**, 334–344 (2010).
- Auranen, M. *et al.* Dominant GDAP1 founder mutation is a common cause of axonal Charcot-Marie-Tooth disease in Finland. *Neurogenetics*. **14**, 123–132 (2013).
- Sevilla, T. *et al.* Clinical, electrophysiological and morphological findings of Charcot-Marie-Tooth neuropathy with vocal cord palsy and mutations in the GDAP1 gene. *Brain*. **126**, 2023–2033 (2003).
- Murphy, S. M. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes and guidelines for genetic testing. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. **83**, 706–710 (2012).
- Suporta, A. S. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann. Neurol.* **69**, 22–33 (2011).
- Marti Massó, J. E., Zarranz, J. J., Otaegui, D. & López de Munain, A. Neurogenetic disorders in the Basque population. *Ann. Hum. Genet.* **79**, 57–75 (2015).
- Pla-Martin, D. *et al.* Junctophilin-1 is a modifier gene of GDAP1-related Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum. Mol. Genet.* **24**, 213–229 (2015).
- Manganelli, F. *et al.* A novel autosomal dominant GDAP1 mutation in an Italian CMT2 family. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **17**, 351–355 (2012).
- Sadiqi, R. *et al.* Psychometrics evaluation of Charcot-Marie-Tooth Neuropathy Score (CMTNSv2) second version, using Rasch analysis. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **19**, 192–196 (2014).
- Morrow, J. M. *et al.* MRI biomarker assessment of neuromuscular disease progression: a prospective observational cohort study. *Lancet Neurol.* **15**, 65–77 (2016).
- Shy, M. E. *et al.* Reliability and validity of the CMT neuropathy score as a measure of disability. *Neurology*. **64**, 1209–1214 (2005).
- Murphy, S. M. *et al.* Reliability of the CMT neuropathy score (second version) in Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Peripher. Nerv. Syst.* **16**, 191–198 (2011).
- Birouk, N. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease type 1A with 17p11.2 duplication. Clinical and electrophysiological phenotype study and factors influencing disease severity in 119 cases. *Brain*. **120**, 813–823 (1997).
- Chung, K. W. *et al.* Different clinical and magnetic resonance imaging features between Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and 2A. *Neuromuscul. Disord.* **18**, 610–618 (2008).
- García-Sobrinho, T. *et al.* Phenotypical features of a new dominant GDAP1 pathogenic variant (p.R226del) in axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuromuscul. Disord.* S0960–8966, 10.1016 (2017).
- Nelis, E. *et al.* Mutations in GDAP1: autosomal recessive CMT with demyelination and axonopathy. *Neurology*. **59**, 1865–1872 (2002).
- Cortez, A. *et al.* Clinical, electrophysiological and genetic finding in three patients with CMT4A. *Neuromuscul. Dis.* **19**, 565–566 (2009).
- Kabzińska, D. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease type 4C caused by a novel Pro153Leu substitution in the GDAP1 gene. *Acta. Myol.* **26**, 108–111 (2007).
- Bouhouche, A. *et al.* Autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease (ARCM2T): phenotype-genotype correlations in 13 Moroccan families. *Brain*. **130**, 1062–1075 (2007).

### Acknowledgements

This collaborative joint project is awarded by IRDiRC and funded by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) - Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación within the framework of the National R + D + I Plan [Grants no. IR11/TREAT-CMT, PI12/00453, PI12/00946, PI15/00187], co-funded with FEDER funds. Dr Espinos has a “Miguel Servet” contract funded by the ISCIII and CIPF [Grant no. CPII14/00002]. Roberto Fernandez-Torron received a Rio Hortega Grant from Instituto de Salud Carlos III. The Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) is an initiative from the ISCIII. National Registry of Hereditary Neuropathy (NMD-ES Project) is partially funded by Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). We would also like to acknowledge the effort of Victoria Fornés from the Statistics department in Hospital La Fe.

### Author Contributions

R.S. Collection of relevant clinical information, manuscript elaboration. M.F. Collection of relevant clinical information, manuscript elaboration. V.L. Genetic and molecular studies, figure elaboration, manuscript revision. T.G.S. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. P.B.A. Genetic and molecular studies, collection of relevant clinical information. J.P. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. R.F. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. A.L.M. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. C.M. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. L.V. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. P.C. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. R.R. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. S.S. Collection of relevant clinical information and database coordination. I.I. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. A.L.F. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. A.N. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. C.C. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. M.G.R. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. S.I.P. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. A.L.P.N. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. J.B. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. A.G. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. C.C. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. A.C. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. J.E. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. M.J.C. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. M.B. Collection of relevant clinical information and coordination. C.D. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. F.P. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. J.J.V. Collection of relevant clinical information, manuscript revision. C.E. Genetic and molecular studies, manuscript revision. T.S. Manuscript elaboration and revision, study coordination.

### Additional Information

**Supplementary information** accompanies this paper at doi:[10.1038/s41598-017-06894-6](https://doi.org/10.1038/s41598-017-06894-6)

**Competing Interests:** The authors declare that they have no competing interests.

**Publisher's note:** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2017

## ORIGINAL ARTICLE

# Characterising the phenotype and mode of inheritance of patients with inherited peripheral neuropathies carrying *MME* mutations

Vincenzo Lupo,<sup>1,2,3</sup> Marina Frasquet,<sup>4,5</sup> Ana Sánchez-Monteaquedo,<sup>1,2,3</sup> Ana Lara Pelayo-Negro,<sup>6</sup> Tania García-Sobrino,<sup>7</sup> María José Sedano,<sup>6</sup> Julio Pardo,<sup>7</sup> Mercedes Misiego,<sup>8</sup> Jorge García-García,<sup>9</sup> María Jesús Sobrido,<sup>10</sup> María Dolores Martínez-Rubio,<sup>1,2,3</sup> María José Chumillas,<sup>11,12</sup> Juan Jesús Vílchez,<sup>4,5,12,13</sup> Juan Francisco Vázquez-Costa,<sup>4,5,12</sup> Carmen Espinós,<sup>1,2,3</sup> Teresa Sevilla<sup>4,5,12,13</sup>

► Additional material is published online only. To view please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105650>).

For numbered affiliations see end of article.

## Correspondence to

Dr Vincenzo Lupo, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Unit of Genetics and Genomics of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders, Valencia 46012, Spain; vlupo@cipf.es and Dr Teresa Sevilla, Hospital Universitario Politécnico la Fe, Department of Neurology, Valencia 46026, Spain; sevilla\_ter@gva.es

VL and MF contributed equally. CE and TS contributed equally.

Received 31 July 2018  
Revised 19 September 2018  
Accepted 7 October 2018



► <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105288>



© Author(s) or their employer(s) 2018. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

**To cite:** Lupo V, Frasquet M, Sánchez-Monteaquedo A, et al. *J Med Genet* Epub ahead of print; [please include Day Month Year]. doi:10.1136/jmedgenet-2018-105650

## ABSTRACT

**Background** Mutations in the metalloendopeptidase (*MME*) gene were initially identified as a cause of autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease type 2 (CMT2). Subsequently, variants in *MME* were linked to other late-onset autosomal dominant polyneuropathies. Thus, our goal was to define the phenotype and mode of inheritance of patients carrying changes in *MME*.

**Methods** We screened 197 index cases with a hereditary neuropathy of the CMT type or distal hereditary motor neuropathy (dHMN) and 10 probands with familial amyotrophic lateral sclerosis (fALS) using a custom panel of 119 genes. In addition to the index case subjects, we also studied other clinically and/or genetically affected and unaffected family members.

**Results** We found 17 variants in *MME* in a total of 20 index cases, with biallelic *MME* mutations detected in 13 cases from nine families (three in homozygosity and six in compound heterozygosity) and heterozygous variants found in 11 families. All patients with biallelic variants had a similar phenotype, consistent with late-onset axonal neuropathy. Conversely, the phenotype of patients carrying heterozygous mutations was highly variable [CMT type 1 (CMT1), CMT2, dHMN and fALS] and mutations did not segregate with the disease.

**Conclusion** *MME* mutations that segregate in an autosomal recessive pattern are associated with a late-onset CMT2 phenotype, yet we could not demonstrate that *MME* variants in heterozygosity cause neuropathy. Our data highlight the importance of establishing an accurate genetic diagnosis in patients carrying *MME* mutations, especially with a view to genetic counselling.

## INTRODUCTION

“One of the most common inherited neurological disorders, Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease, is clinically and genetically heterogeneous, with more than 90 disease-causing genes identified to date (<http://neuromuscular.wustl.edu>). Phenotypically, CMT is traditionally divided into demyelinating [CMT disease type 1 (CMT1)] or axonal [CMT disease type 2 (CMT2)] forms, the former lending itself to genetic characterisation in more than 90% of cases.<sup>1–3</sup> By contrast, in the majority of patients with the axonal form, no gene mutations have been

identified that may account for their disease and causal genes still remain largely unknown.<sup>1–3</sup> The most frequent clinical CMT phenotype involves the development of progressive distal weakness and sensory loss in the first two decades of life.<sup>4</sup> Onset after the age of 40 is unusual and most late-onset forms are considered to be CMT2.<sup>5</sup> Diagnosing late-onset hereditary neuropathies is challenging as incomplete penetrance and small family size are frequently problems that hinder the identification of patients with genetic neuropathies. Suspected hereditary causes are even more difficult to define in sporadic cases and in fact, it is not infrequent for such cases to be considered as chronic idiopathic axonal polyneuropathy (CIAP) or chronic demyelinating neuropathies (CIDPs).<sup>5,6</sup>

In recent years, mutations in the metalloendopeptidase (*MME*) gene were identified as the cause of late-onset autosomal recessive (AR) CMT2 in some Japanese patients.<sup>7</sup> Likewise, several cases of autosomal dominant (AD) late-onset neuropathies in European and American families were linked to *MME* variants.<sup>8</sup> Here, we present data from a series of patients with CMT, distal hereditary motor neuropathy (dHMN) and familial amyotrophic lateral sclerosis (fALS) without genetic diagnosis, but who were studied using a panel of 119 genes causing neuropathy and/or ALS. The aim of this study was to shed light on the phenotype and mode of inheritance of the neuropathies caused by *MME* mutations.

## MATERIALS AND METHODS

### Patients and samples

We screened 197 index cases with CMT/dHMN and 10 patients with fALS using our custom panel of 119 genes (Neuro119; online supplementary table 1). Capture-based target enrichment was performed using custom probes and the SureSelectQXT kit (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) suitable for Illumina sequencing (Illumina, San Diego, California, USA). All the patients were examined by experienced neurologists at six different Spanish hospitals. In most of the patients with CMT, a *PMP22* duplication or deletion and mutation of the most frequent genes



associated with these conditions (*MPZ*, *GJB1* and *GDAP1*) had been ruled out. In patients with *fALS*, *C9ORF72* expansion had been discarded. After sequencing the panel of genes, the clinical data and genetic findings from 20 families and 26 affected individuals carrying mutations in the *MME* gene were studied in more detail. In addition, 44 unaffected family members were included in this study for segregation analysis and/or for clinical assessment. In one family, peripheral blood derived mRNA was also characterised to assess *MME* splicing. In addition, muscle MRI was performed on five patients, obtaining standard axial sections at the level of the hip, thigh, lower leg and feet, as described previously.<sup>9</sup> Sural nerve biopsy was also performed on one individual (patient F4/II:1) when he was 53 years old. Written informed consent was obtained from all the patients included in this study. All the studies were carried out in accordance with the Helsinki declaration regarding experimentation on humans (World Medical Association, 1964).

### Genetic analysis

Candidate variants were selected by excluding all variants with a minor allele frequency (MAF) higher than 1% in control databases (ESP6500, 1000G, ExAC and gnomAD). In addition, novel or less frequent nucleotide changes in coding exons (synonymous, missense, non-sense, frameshift and indels) and those affecting splice sites were prioritised. To predict the effects of the mutation on the protein, we generated a prediction score by running the following algorithms and programs: PROVEAN, SIFT, PolyPhen-2, GERP and PhyloP. After the initial filter process, interpretation of the variants was performed following the American College of Medical Genetics guidelines.<sup>10</sup> Candidate variants were validated by Sanger sequencing and they were tested for segregation analysis where possible.

### RESULTS

In a total of 20 unrelated case subjects, 17 variants of *MME* gene were identified with the Neuro119 gene panel (table 1).

#### Families with biallelic mutations

Segregation analysis confirmed biallelic mutations in the *MME* gene in all 13 affected individuals from nine families (F1–F9) in which no consanguinity was reported (figure 1). In these nine families, 18 of the 27 healthy individuals examined carried a heterozygous *MME* change (figure 1); yet, no asymptomatic carriers of biallelic changes were found. The average age of the patients with biallelic mutations was 57 and the age of those carrying heterozygous changes was 60, while the average age of the non-carriers was 55. In total, we detected 11 different variants in the nine families with biallelic mutations, seven of which were not present in any of the control population databases consulted (table 1). Patients who carried the c.466delC change lived in the northwest of Spain, while those carrying the c.1342C>T substitution lived in the southeastern area, suggesting two independent founder events in our population.

In family 9, the c.1666C>T (p.Pro556Ser) variant was not found in either parent, suggesting that this mutation occurred de novo (figure 1, table 1). The analysis of *MME* mRNA extracted from one patient's peripheral blood (F4/II:2) revealed that the novel splice donor change c.196+1G>A caused the skipping of exon 2 (online supplementary figure 1), predicting an in-frame deletion variant (p.Asp54\_Ser65del).

The Human Genome Variation Society (HGVS) nomenclature and RefSeq accession number NM\_000902 were used for the description of genetic mutations identified in *MME*. Prediction

and the conservation score was calculated according to algorithms and programmes shown in the online supplementary table 2 (ie, for the prediction and conservation score, values of 0/3, 1/3 and 1/2 estimate a tolerated effect on the protein, while values of 2/3–3/3 and 2/2 estimate a deleterious effect).

The clinical features and electrophysiological findings of all 13 patients are summarised in tables 2 and 3. The age at onset ranged from 35 to 73 years (median age of 44 years) and all the patients developed slowly progressive weakness and atrophy, which commenced in the distal lower limbs and spread to the distal upper limb muscles over a period of some years. The symptoms at the beginning of the disease were mainly motor, involving cramps and very frequent muscle contractures, although sensory symptoms were also prominent in the most evolved patients. Most patients needed assistance with walking within a few years of clinical onset.

There were several particularities among our patients that are worthy of further attention. Patient F1/II:1 had long-standing diabetes mellitus (DM) and a renal failure that required dialysis. His neuropathy developed after the age of 40 and it was first attributed to his DM; yet, a genetic cause was later considered due to the progressive atrophy in the limbs. Patients F2/II:5 and F4/II:2 were both diagnosed with CIDP, although treatment with different immunosuppressive and immunomodulatory therapies did not produce any clinical improvement. A nerve biopsy from patient F4/II:2 showed a loss of multifocal myelinated fibres of all diameters (data not shown). The clinical evolution of these patients generated suspicion of a genetic cause and furthermore, a second affected patient in family F2 was later found.

In two families (F6 and F7), there was a history of dementia, with the mother (F6/I:2) and maternal aunt (F6/I:3) of patient F6/II:4 having been diagnosed with Alzheimer's disease. The onset of dementia occurred in the eighth decade of life and neither of them developed symptoms of neuropathy. The mother (F6/I:2) carried a change in *MME* that was detected in heterozygosis, whereas the aunt F6/I:3 had no change in *MME*. Patient F7/II:1 developed both neuropathy and dementia, commencing at the age of 40 and 67 years of age, respectively, and he was ultimately diagnosed with Alzheimer's disease. Patient F5/II:1, who carried the same mutation in homozygosis as patient F7/II:1, had no clinically evident cognitive impairment. Except for the patient with Alzheimer's disease, no other patients complained of memory loss or showed apparent cognitive impairment.

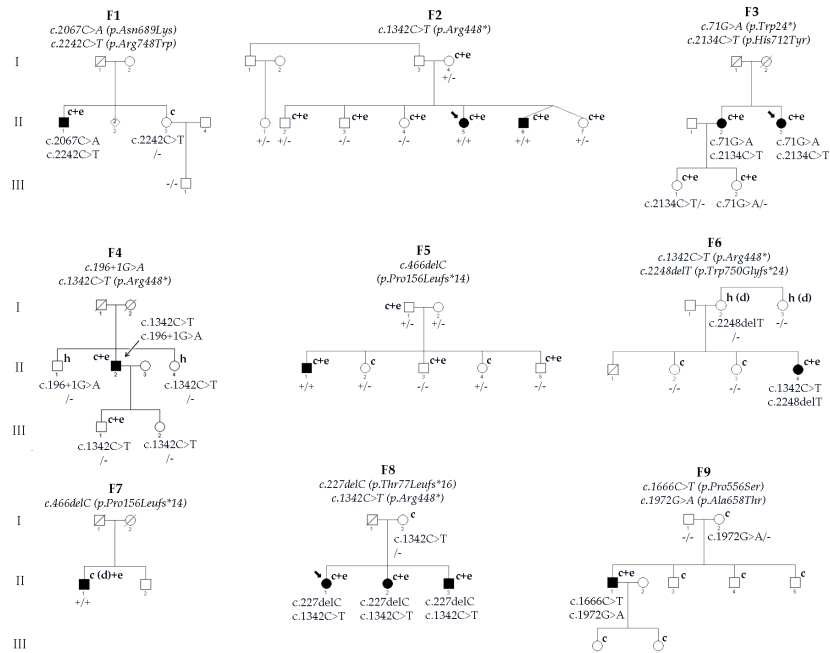
In nerve conduction and electromyography (EMG) studies, motor nerve conduction velocities (MNCVs) were compatible with a length-dependent axonal neuropathy (table 3). An intermediate (35–45 m/s) or even demyelinating (<38 m/s) range of MNCVs was recorded in some nerves although conduction to proximal muscles produced higher MNCV values (table 3). In the *MME* series, needle EMG revealed chronic neurogenic denervation. In some patients, positive sharp waves and fibrillation potentials were evident in the upper and lower limb muscles, particularly in the tibialis anterior muscle. Peripheral nerve hyperexcitability was recorded in a minority of patients, in the form of myokymia and fasciculations (table 3). The decrease in the sensory action potential commenced later than that in the compound motor action potential (CMAP), yet they tended to decrease first in the lower limbs and later in upper limbs as the disease evolved. Motor nerve amplitudes were initially conserved due to reinnervation, although such compensation was rapidly lost at some point and a progressive reduction of CMAP was then observed. In those patients (F2/II:5 and F4/II:2), in whom electrophysiological studies were performed at different stages of the disease, the spontaneous activity was initially frequent and

**Table 1** Variants of *MME* identified in 20 families with Neuro119 gene panel

Family/ <i>MME</i> mutations	Type of variant	rs ID	Allele count (allele frequency)		Ref.	Variant score		Segregation/inheritance	Genotype/phenotype
			ExAC	gnomAD		Prediction score	Conservation score		
F1/C.2067G>A (p.Asn680Asp), c.2242C>T (p.Arg748Trp)	Missense	rs146536523; rs141665432	29 (2.41E-04); 17 (1.40E-04)	47 (1.91E-04); 30 (1.22E-04)	n.r.; n.r.	3/3; 3/3	2/2	Positive/AR	CH/CMT2
F2/c.1342C>T (p.Arg448*)	Non-sense	rs149905705	4 (3.309E-05)	21 (7.6E-05)	8	LoF*	LoF*	Positive/AR	HMZ/CMT2
F3/c.2134C>T (p.His712Tyr), c.71G>A (p.Trp24*)	Missense; non-sense	rs886039755	n.r.; n.r.	n.r.; n.r.	n.r./8	3/3; LoF*	2/2; LoF*	Positive/AR	CH/CMT2
F4/c.196+1G>A; c.1342C>T (p.Arg448*)	Splice donor; non-sense	This work; rs149905705	n.r.; 4 (3.309E-05)	n.r.; 21 (7.6E-05)	n.r./8	LoF*	LoF*	Positive/AR	CH/CMT2
F5/c.466delC (p.Pro156Leu15*)	Frameshift	rs749320057	20 (1.66E-04)	66 (2.38E-04)	8	LoF*	LoF*	Positive/AR	HMZ/CMT2
F6/c.1342C>T (p.Arg448*); c.2248delT (p.Trp750Gly)* 24)	Non-sense; frameshift	This work; rs149905705; this work	4 (3.309E-05); n.r.	21 (7.6E-05); n.r.	8/n.r.	LoF*	LoF*	Positive	CH/CMT2
F7/c.466delC (p.Pro156Leu15*)	Frameshift	rs749320057	20 (1.66E-04)	66 (2.38E-04)	8	LoF*	LoF*	n.a./n.d.	HMZ/CMT2
F8/c.2274delC (p.Trp77Leu15*16); c.1342C>T (p.Arg448*)	Frameshift; non-sense	Novel; rs149905705	n.r.; 4 (3.309E-05%)	n.r.; 21 (7.6E-05)	n.r./8	LoF*	LoF*	Positive/AR	CH/CMT2
F9/c.1666C>T (p.Pro556Ser); c.1972G>A (p.A658I)	Missense	This work; this work	n.r.; n.r.	n.r.; n.r.	n.r.; n.r.	3/3; 3/3	2/2	n.a./n.d.	CH/CMT2
F10/c.1342C>T (p.Arg448*)	Non-sense	rs149905705	4 (3.309E-05)	21 (7.6E-05)	8	LoF*	LoF*	Negative/n.d.	HET/CMT2+deafness
F11/c.1810G>A (p.Val60Ile)	Missense	rs200308077	35 (2.91E-04)	64 (2.31E-04)	n.r.	0/3	1/2	Negative/AR	HET/CMT2
F12/c.1883A>G (p.Asn628Ser)	Missense	rs181745819	4 (3.301E-05)	14 (5.0E-05)	n.r.	2/3	2/2	Negative/n.d.	HET/CMT1
F13/c.1495G>A (p.Glu499Iys)	Missense	rs201292663	7 (5.818E-05)	10 (4.071E-05)	n.r.	0/3	1/2	n.a./n.d.	HET/CMT2
F14/c.2248delT (p.Trp750Gly)* 24)	Non-sense	This work	n.r.	n.r.	n.r.	LoF*	LoF*	Negative/n.d.	HET/ALS
F15/c.773A>G (p.Gln258Arg)	Missense	rs763210226	1 (8.245E-06)	1 (4.07E-06)	n.r.	0/3	2/2	Negative/n.d.	HET/ALS
F16/c.1295G>A (p.Arg410His)	Missense	rs201238171	2 (1.649E-05)	3 (1.084E-05)	n.r.	1/3	2/2	n.a./n.d.	HET/possible-CMT
F17/c.674G>C (p.Gly225Ala)	Missense	rs147564881	176 (2.158E-03)	416 (1.533E-03)	n.r.	2/3	2/2	Negative/n.d.	HET/sensory dementia
F18/c.674G>C (p.Gly225Ala)	Missense	rs147564881	176 (2.158E-03)	416 (1.533E-03)	n.r.	2/3	2/2	Negative/n.d.	HET/dHWN
F19/c.674G>C (p.Gly225Ala)	Missense	rs147564881	176 (2.158E-03)	416 (1.533E-03)	n.r.	2/3	2/2	n.a./n.d.	HET/dHWN
F20/c.466delC (p.Pro156Leu15*)	Frameshift	rs749320057	20 (1.66E-04)	66 (2.38E-04)	8	LoF*	LoF*	n.a./n.d.	HET/possible-CMT1

AR, autosomal recessive; CH, compound heterozygous; CMT, Charcot-Marie-Tooth; dHWN, distal hereditary motor neuropathy; ALS, familial amyotrophic lateral sclerosis; HET, heterozygous; HMZ, homozygous; LoF\*, loss-of-function prediction; n.r., not reported; n.a., not available; n.d., not determined; n.r., not reported; rs ID, variant identification tag assigned by National Center for Biotechnology Information.

Neurogenetics



**Figure 1** Pedigrees of the families with biallelic mutations in *MME*. *MME* variant genotypes of affected and unaffected individuals are shown below the pedigree symbols; an arrow in the upper right corner was used to indicate the genotype of the individual F4/II:2. Proband is indicated with an arrowhead. Patients and family members who received a clinical and/or electrophysiological evaluation are identified with the symbol (c) and (e), respectively. Family members with a clinical history only are indicated by an h. (d)=subjects diagnosed with dementia.

as the disease progressed, signs of chronic denervation become more evident (data not shown).

The clinical assessment of 12 heterozygous carriers (figure 1, symbol c) was normal, as were the results of the electrophysiological studies in seven of these (figure 1, symbol c+e). While a clinical examination was not carried out on the remaining relatives who were included in the segregation study, questions addressed to the index case or another family members did not suggest any neuropathic alterations (figure 1, symbol h).

MRI revealed a fatty infiltration that followed a length-dependent pattern. Indeed, the involvement of intrinsic muscles of the feet occurred at an earlier stage of the disease and was more severe than that in the muscles of the legs and thighs. The degree of fatty infiltration was similar in all the leg and thigh muscles at the same axial level (figure 2).

**Families with heterozygous mutations in *MME***

In 11 families (F10–F20), the Neuro119 gene panel identified nine different heterozygous mutations in *MME*; all of them present in the control population databases (table 1). In seven families, a segregation analysis indicated that the mutations identified in the *MME* gene did not segregate with the disease (online supplementary figure 2A), while segregation analysis was not possible in the remaining four families (online supplementary figure 2B). In two families, F10 and F15, a novel *AIFM1* variant (p.Ile592Thr), that is probably damaging and a pathological

missense mutation in *SOD1* p.Gly38Arg, were also identified (table 4; online supplementary figure 2).

The clinical features and pedigrees of all 11 patients are summarised in supplementary figure 2 and table 4. Two of the 11 probands that carried heterozygous mutations in *MME* belonged to families with fALS or ALS and frontotemporal dementia (F14 and F15). In the other nine probands, there was wide phenotypic variability, four of them presenting a CMT2 phenotype, two with distal motor neuropathy and the other three a demyelinating neuropathy. Interestingly, in family 11, the two affected members (F11/II:1 and F11/II:4) presented a phenotype that mimicked the AR *MME*-associated disease, although only F11/II:4 had the heterozygous variant p.Val604Ile in the *MME* gene. Families 17 and 20 had only mild sensory symptoms, although the electrophysiological study produced evidence of generalised demyelinating polyneuropathy. The patient in family 12 developed a sensory predominant neuropathy with late-onset symptoms that did not respond to immunomodulatory therapy.

**DISCUSSION**

Genetic testing of 207 patients with CMT/dHMN and ALS using targeted next-generation sequencing of 119 genes led to the identification of 17 different mutations in the *MME* gene in 20 families. Biallelic mutations in the *MME* gene were confirmed in nine families, while only heterozygous variants were found in 11 families. Four out of the 17 mutations were detected in more



**Table 2** Clinical data from 13 patients with neuropathy due to biallelic mutations in *MIME*

Family/ Patient	Phenotype	Sex/ current age (Y)	AOO (Y)	Initial symptoms	AOE (Y)	LL weakness (MRC) Proximal–distal (finger/leg)	UL weakness (MRC) Proximal–distal (right/ left)	Reflexes	Vibration sensation	Pinprick sensation	UL atrophy/ LL atrophy	Pes cavus	Walking aid	Cognitive impairment or dementia/other features
F1/II1	CMT2	M/38	40	Difficulty in walking, legs' atrophy	58	4/4–0/0	5/5–3/3	Abs	Abs toes and ankles, red knees	Red knees	Hands/legs	No	One crutch since age 53. Steppage gait	Diabetes mellitus, renal insufficiency, dialysis since age 54
F2/II5	CMT2	F/53	44	Unsteadiness, cramps	53	5/5–3/3<3	5/5–3/3	Abs	Abs toes, red ankle and knee	Red knees	Hands/legs	Yes	Cane at 48, frame at 52	No
F2/II6	CMT2	M/69	40	Unsteadiness, cramps	46	5/5–3/3<3	5/5–3/3	Abs	Red knees, red wrist	Red knees, red wrist	Hands/legs	Yes	Cane since age 46	No
F3/II2	CMT2	F/66	58	Walking impairment	61	5/5–3/3	5/5–5/5	Abs	Reduced up to iliac crests	Reduced ankles	NA	NA	One crutch. Steppage gait	No
F3/II3	CMT2	F/80	73	Walking impairment and unsteadiness	78	5/5–3/3<3	5/5–5/5	Abs	Reduced up to iliac crests	Normal	NA	NA	Steppage gait	No
F4/II2	CMT2	M/65	44	Weakness in lower limbs, cramps	65	5/4–0/0	5/5–3/3	Abs	Abs toes and ankle, red knees	Red ankle, red ankle	Hands/legs	No	Leg orthosis. Uses one crutch.	No
F5/II1	CMT2	M/59	53	Distal weakness in lower limbs	58	4/4–3/3	5/5–5/4	Abs	Reduced toes and ankle	Moderate	Legs and thighs	Yes	One crutch occasionally	No
F6/II4	CMT2	F/39	35	Cramps, distal weakness LL	39	5/5–3/3	5/5–5/5	Decreased in UL, abs in LL	Abs toes	Red ankle	No/legs	Yes	No. Steppage gait	No
F7/II1	CMT2	M/75	40	Fasciculations in all four limbs, weakness	61	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Dementia since 2009; right extensor digitorum white matter damage.
F8/II1	CMT2	F/54	44	Distal weakness in lower limbs	53	4/4–2/2	5/5–3/3	Abs	Reduced up to iliac crests	Red ankle	Hands/legs	Yes	No/Steppage gait	Trigeminal neuralgia
F8/II2	CMT2	F/50	49	Distal weakness in lower limbs	50	5/5–4/4	5/5–5/5	Decreased in UL, abs in LL	Normal	Normal	No/legs	No	No	No
F8/II3	CMT2	M/49	46	Distal weakness in lower limbs	49	5/5–4/4	5/5–5/5	Decreased in UL, abs in LL	Reduced up to iliac crests	Normal	No/legs	Yes	No/Steppage gait	No
F9/II1	CMT2	M/51	42	Walking impairment	51	5/5–3/3	5/5–5/5	Abs	Reduced toes and ankle	Red ankles	No/yes	No	No/Steppage gait	No

Abs, absent; AOE, age of examination; AOO, age of onset; CMT, Charcot-Marie-Tooth; F, female; LL, lower limbs; M, male; MRC, Medical Research Council; NA, not available; Red, reduced; UL, upper limbs; Y, years.

**Table 3** Electrophysiological data of patients with neuropathy due to biallelic mutations in *MME*

Family/patient	Age	TDE	Median nerve						Peroneal nerve,						Sural nerve						EMG	Spontaneous activity/distribution	Peripheral nerve hyperexcitability
			Motor			Sensory			Motor			Sensory			Motor			Sensory					
			Amp	CV	CV	Amp	CV	CV	Amp	CV	CV	Amp	CV	CV	Amp	CV	CV	Amp	CV	CV			
F1/II1*	56	16	1.6 5.6†	26.2 48.4†	NR	1.8	48.3	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Distal UL and proximal LL Absent/voluntary activity in distal LL	Yes/distal LL	Myokymia in distal UL and proximal LL	
F2/II5‡	47	3	8.3	46.6	3.75	36.1	48.6	4.8	42.6	NR	–	2.0	38.5	–	–	–	–	–	–	Distal UL and distal LL Isolated motor units in distal LL	Yes/distal UL and distal LL	No	
F2/II6‡	43	3	2.9	35.7	1.7	23.6	43.9	6.1	50	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	ND	ND	ND	
F3/II2	61	3	6.6	48.4	5	49.3	8	46.2	3.2	47.1	1.8	36.4	0.7	31.1	–	–	–	–	–	Distal LL	No	No	
F4/II2	47	3	10.1	48.6	21	46.4	13.2	50.5	7.2	46.4	0.0	–	4.5	38.6	–	–	–	–	–	Distal UL and distal and proximal LL	Yes/distal LL	No	
F5/II1	56	3	11.2	45	11	40	9.5	50	18	44	0.1	34	5.0	37	–	–	–	–	–	Distal UL and proximal UL and LL	Yes/distal LL	NA	
F6/II4	39	4	11.2	45.3	13	47.3	15.6	50.0	6.4	52.3	0.1	–	4.7	33.3	–	–	–	–	–	Distal UL and distal LL	Yes/distal UL and distal LL	Fasciculations in distal UL and proximal LL	
F8/II1	51	7	1.6	34.9	1.4	46.6	1.9	39.6	1.3	45.3	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Distal UL and distal LL	NA	NA	
F8/II2	50	1	5.8	45.2	7.7	43.4	7.6	54.2	5.2	54.3	1.9	37.6	7.5	35.6	–	–	–	–	–	Distal LL	No	NA	
F8/II3	49	3	3.2	42.4	1.8	40.7	7.8	49.1	1.8	40.3	0.6	37	4.2	39.1	–	–	–	–	–	Distal LL	NA	NA	
F9/II1	50	8	4.2	40.7	3.9	38.3	8.7	41.9	3.25	46.2	0.02	32.2	1.08	38.6	–	–	–	–	–	Distal and proximal UL and LL	NA	NA	

Electrophysiological studies were not available from patients F3/II3 and F7/II1

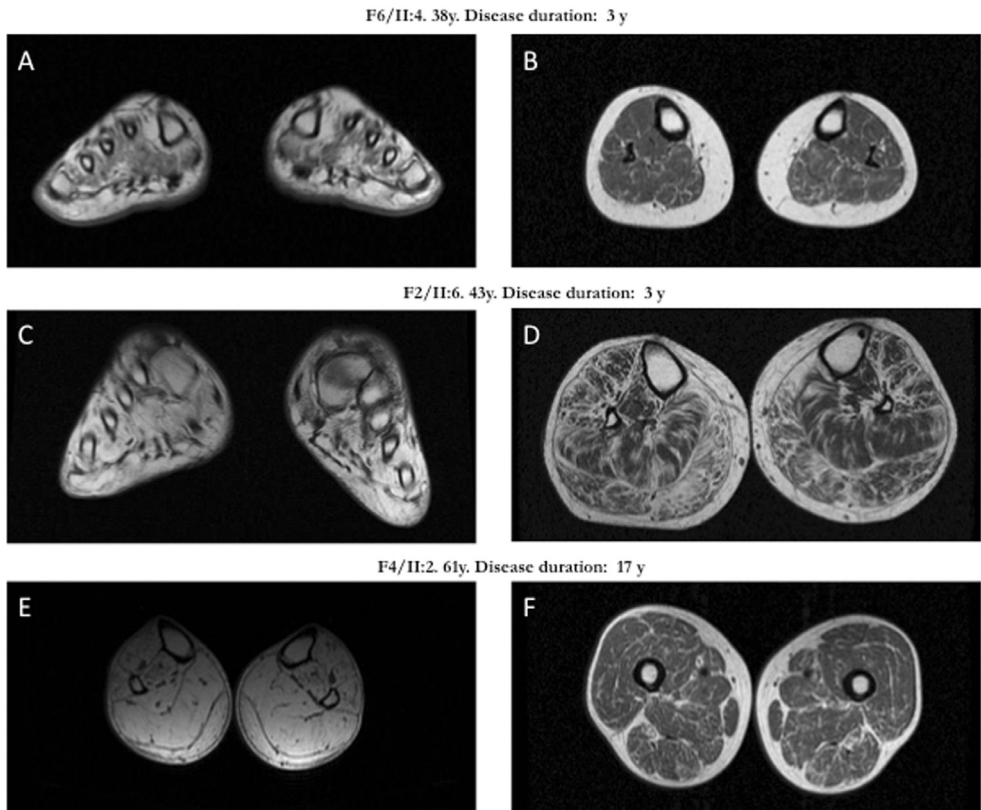
Spontaneous activity: fibrillations, positive sharp waves, high frequency repetitive discharges.

\*Radial nerve, extensor indicis (elbow–forearm) CMAP: 2.4 mV, MNCV: 47.6 m/s.

†Flexor carpi radialis (axilla-elbow).

‡Patients diagnosed with carpal tunnel syndrome.

–, not calculated; CV, conduction velocity (m/s); EMG, electromyography; LL, lower limbs; Motor Amp, evoked motor potential amplitude (mV); ND, not done; NR, no response; Sensory Amp, sensory action potential amplitude (microV); TDE, time of disease evolution from clinical onset (years); UL, upper limbs.



**Figure 2** T1 weighted axial MRI images of the lower limbs from patients F6/II:4, F2/II:6 and F4/II:2. (A) and (C) show MRIs at the level of the feet; (B) (D) and (E) at the mid-calf level and (F) at the thigh level. Fatty infiltration followed a length-dependent pattern that was more severe in patients who were older or had a longer disease course. Note that in patient F6/II:4, there is a severe fatty infiltration in the intrinsic muscles of the feet (A) and only a subtle fatty infiltration in the lower leg muscles (B). In patient F2/II:6, there is complete fatty infiltration of the intrinsic muscles of the feet (C) and moderate–severe infiltration of the muscles at the level of the calf (D). In patient F4/II:2, there is complete fat replacement of the muscles in the lower legs (E) and a mild diffuse fatty infiltration of the thigh muscles (F).

than one family, while the other variants were found only once in 13 families. The changes that segregated with the neuropathy displayed an AR pattern of inheritance. Patients with biallelic mutations in *MME* had a homogeneous phenotype that consisted of late-onset axonal CMT, while those patients with heterozygous variants presented a more varied spectrum of phenotypes.

The p.Arg448\* mutation was the most common in our *MME* cohort study and it was detected in five unrelated families. In four of these five families, this mutation was either homozygous (F2) or in trans with a second *MME* mutation (F4, F6 and F8). In the fifth family (F10), the p.Arg448\* change was identified in heterozygosis and segregation analysis ruled out this change as the cause of the disease. However, a second and novel missense variant in the *AIFM1* gene could be responsible for the neuropathy and deafness in this patient. The second most common mutation p.Pro156Leufs\*14 was found in homozygous in two families (F5, F7) with a late-onset CMT2 phenotype. In these

families, heterozygous carriers of this mutation had normal clinical and electrophysiological features, including two individuals over 80 years old. A third loss of function (LoF) change (p.Trp750Glyfs\*24) was found in two independent families (F6, F14). In the index case of family F6 (II:4), the presence of a second change in *MME* in trans (p.Arg448\*) confirmed the diagnosis of an AR CMT2 phenotype associated with *MME*. In family F14, the p.Trp750Glyfs\*24 was also identified in heterozygosity in patient II:3, who developed a slowly progressive ALS, as did his brother (II:4) who also had early onset dementia with no motor neuron impairment. The missense variant p.Gly225Ala was identified in heterozygosity in three different families (F17, F18 and 19). Taking into account the clinical variability of these patients, we classified this variant as a benign polymorphism since the segregation studies performed in two families (F17–18) were negative and the allele frequency in a control population database was high.

**Table 4** Clinical features of 11 families (proband) with heterozygous variants in the *MME* gene

Family/patient	Change in <i>MME</i>	Phenotype	Inheritance	Sex/ current age (Y)	AOO (Y)	Initial symptoms	Functionality	Additional variants identified during the study
F10/II:3	c.1342C>T (p.Arg448*)	CMT2 and deafness	Sporadic	M/55	12	Weakness in LL	Uses foot orthoses and one crutch	<i>AIFM1</i> [c.1775T>C (p.Ile592Thr); novel]
F11/II:4	c.1810G>A (p.Val604Ile)	CMT2	AR	M/66	55	Unsteadiness, cramps	Stepagge gait	No
F12/II:1	c.1883A>G (p.Asn628Ser)	Demyelinating neuropathy	Sporadic	M/58	54	Unsteadiness	Uses a cane	No
F13/II:2	c.1495G>A (p.Glu499Lys)	CMT2	Sporadic	F/73	53	Sensory symptoms followed by LL weakness	Mild LL weakness	<i>HSPB1</i> [c.-109A>C; rs559109348]
F14/II:3	c.2248delT (p.Tip750Glyfs*24)	ALS	AD*	M/67	54	Right hand atrophy	Three regions affected. Bedridden	<i>MARS</i> [c.223T>C (p.Tip75Arg); rs760170215]; <i>DCTN2</i> [c.1198C>T (p.Arg400Trp); rs374783640]
F15/III:3	c.773A>G (p.Gln258Arg)	ALS	AD	F/58	30	LL, UL and respiratory muscles involvement	Slowly progressive ALS. Uses a wheelchair	<i>SCD1</i> [c.112G>A; p.Gly38Arg]; Pathogenic in <sup>11</sup>
F16/II:1	c.1229G>A (p.Arg410His)	CMT2	Sporadic	M/63	51	LL weakness.	Mild LL weakness.	<i>FUS</i> [c.676G>A (p.Gly226Ser); rs758970940]
F17/II:1	c.674G>C (p.Gly225Ala)	Demyelinating neuropathy	Sporadic†	F/41	39	Mild sensory symptoms in hands during pregnancy (CTS)	Non progressive course.	No
F18/II:2	c.674G>C (p.Gly225Ala)	dHMN	Sporadic	M/50	12	LL weakness and atrophy	Stepagge gait	No
F19/II:1	c.674G>C (p.Gly225Ala)	dHMN	Sporadic	M/62	56	Distal lower limb weakness	Uses foot orthoses	No
F20/II:1	c.466delC (p.Pro156Leufs*)	Demyelinating neuropathy	Sporadic	M/54	78	Ankle sprain	Hypoesthesia in distal LL	No

\*Familiar history of dementia with autosomal dominant (AD) inheritance.

†Her twin sister (F17/II:2; dHMN, distal hereditary motor neuropathy, supplementary figure 2) had the same electrophysiological changes

ALS, amyotrophic lateral sclerosis; AOO, age of onset; CMT2, Charcot-Marie-Tooth type 2; CTS, carpal tunnel syndrome; F, female; LL, lower legs; M, male; UL, upper legs; Y, years.

The rest of the changes detected were only identified in one family. Interestingly, the p.Val604Ile change was found in a patient with late-onset CMT2 (F11) with a similar clinical profile to patients with biallelic *MME* mutations. However, segregation analysis ruled out this change as the disease-causing mutation in this large pedigree. In family F15, the proband diagnosed with fALS carried the *MME* p.Gln258Arg variant. However, this variant was also found in two healthy relatives. In addition, a pathogenic mutation in the *SOD1* gene (p.Gly38Arg)<sup>11</sup> was detected in the proband using Neuro119 gene panel.

Our patients with biallelic mutations in *MME* have the same clinical characteristics as a cohort of Japanese patients published previously,<sup>7</sup> although there appear to be no common genetic variants between these series of patients. Conversely, three out of the 17 mutations detected in this study (p.Trp24\*, p.Pro156Leufs\*14 and p.Arg448\*) were described previously in European and American patients, and linked to late-onset AD polyneuropathies.<sup>8</sup> In our cohort, the healthy relatives carrying the heterozygous LoF mutations (such as, p.Pro156Leufs\*14, p.Arg448\* and p.Trp750Glyfs\*24), who were older than the affected individuals, did not present any signs of neuropathy. Indeed, it is notable that the allele frequency of the first two of these variants (p.Pro156Leufs\*14 and p.Arg448\*) has augmented from the ExAC to gnomAD databases. Likewise, according to constraint metrics from ExAC,<sup>12</sup> rare LoF changes are observed in *MME* gene, leading to a null LoF intolerance probability (PLI=0.00). Moreover, the number of missense variants for the *MME* gene is higher than expected, resulting in a negative Z-score of -1.12. All together, these findings support the hypothesis that *MME* is likely to be tolerant to both missense and LoF variants at least when in heterozygosis, strongly supporting an AR pattern of inheritance for *MME*.

Our patients diagnosed with a *MME*-associated neuropathy presented a late-onset and predominantly a motor neuropathy, with frequent cramps and muscle contractures accompanied by acute denervation evident in EMGs. Moreover, sensory impairment becomes apparent with disease evolution and it is an important cause of disability. In some of our patients, MNCV showed values compatible with an intermediate or even a demyelinating neuropathy, especially in the median nerve. In the patients described by Higuchi *et al.*,<sup>7</sup> MNCV of the median nerve was indicative of an axonal neuropathy in all patients except in one in whom median MNCV was 37.4 m/s. The multifocal pattern of myelinated fibres loss found in the nerve biopsy of patient F4/II:2 has been described in other CMT2 neuropathies like *MORC2*.<sup>13</sup> In general, we consider that *MME*-CMT is predominantly an axonal neuropathy although in some patients, especially in the median nerve, there are both axonal and demyelinating features probably reflecting the complex interaction between axons and Schwann cells not infrequently found in other genetic neuropathies. Neuropathies caused by mutations in *MME* have a clinical phenotype that can be easily confused with an acquired neuropathy, especially due to their age of onset and their relatively rapid progression, unlike classic CMT. As a matter of fact, one patient in our series had been diagnosed with diabetic neuropathy and two other patients with CIDP and treated accordingly. Therefore, a possible diagnosis of neuropathy associated with mutations in *MME* should be considered in patients, who are diagnosed with CIDP but in whom the neuropathy is predominantly axonal and who show poor response to immunosuppressor or immunomodulatory treatments. In addition, fatty infiltration of muscles in the lower limbs is detected in the MRIs of patients diagnosed with CMT2 due to recessive mutations in *MME*, following a typical length-dependent pattern.

Curiously, there is no clear preferential involvement of specific muscles or compartments, as occurs in other genetic neuropathies. With the data available, we conclude that the characteristic muscle MRI in *MME* patients involves muscle length-dependent fatty infiltration that appears to affect all muscles localised at the same axial level in a similar way.

It is unclear what are the pathological events driven by *MME* mutations in the peripheral nervous system (PNS). The Nephrylin (NEP) protein is expressed in many tissues,<sup>14</sup> including the PNS and central nervous system (CNS).<sup>15,16</sup> although NEP-deficient mice do not show any obvious abnormalities in motor performance or degeneration of their peripheral nerves.<sup>8</sup> Neurodegeneration in a length-dependent neuropathy may not be so evident in a mouse model given their short life span and the reduced vulnerability of shorter axons. In the CNS, NEP degrades A $\beta$  amyloid (A $\beta$ ) and most studies have focused on its possible pathogenic role in Alzheimer's disease<sup>17-19</sup>; yet, to date *MME* mutations have not been associated to familial Alzheimer's disease. Indeed, none of the Japanese patients with CMT2\* were considered to be cognitively impaired after detailed neuropsychological testing. In our cohort, one patient who harboured a *MME* LoF mutation (p.Pro156Leufs\*14) was diagnosed with Alzheimer's disease, although his cognitive impairment commenced nearly three decades after the neuropathic symptoms appeared. In family F6, the mother (I:2) and maternal aunt (I:3) of the proband were diagnosed with dementia; yet, this was not associated with the p.Trp750Glyfs\*24 change, as this variant was not detected in the aunt. However, this change was also found in a second family with a history of ALS and dementia (F14/II:3 and F14/II:5, respectively). While it may still be feasible that p.Trp750Glyfs\*24 is linked to dementia, the fact that one of the patients with dementia did not carry this change (F6/I:3) makes this hypothesis less likely. As such, the possible association of the *MME* gene with cognitive impairment remains elusive.

In conclusion, our findings confirm that *MME* does represent the most common causative gene responsible for late-onset AR-CMT2 in our population, but they do not provide support for the hypothesis that heterozygous mutations in *MME* are a direct cause of CMT. Our studies strengthen the importance of establishing a genetic diagnosis in order to avoid inappropriate immunomodulatory therapies and to ensure that appropriate genetic counselling is given, especially in the light of potentially new treatments for this condition.

#### Author affiliations

<sup>1</sup>Unit of Genetics and Genomics of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, Spain

<sup>2</sup>Rare Diseases Joint Units, INCLIVA & IS La Fe-CIPF, Valencia, Spain

<sup>3</sup>Department of Genomics and Translational Genetics, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, Spain

<sup>4</sup>Neuromuscular Diseases Unit, Neurology Department, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain

<sup>5</sup>Neuromuscular and Ataxias Research Group, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, Spain

<sup>6</sup>University Hospital 'Marqués de Valdecilla (IDIVAL)' and 'Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED)', Santander, Spain

<sup>7</sup>Neurology Department, Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela, Spain

<sup>8</sup>Neurology Department, Hospital Sierrallana, Torrelavega, Spain

<sup>9</sup>Neurology Department, Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, Albacete, Spain

<sup>10</sup>Neurogenetics Research Group, Instituto de Investigaciones Sanitarias (IDIS), and Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Santiago de Compostela, Spain

<sup>11</sup>Department of Clinical Neurophysiology, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain

<sup>12</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain

<sup>13</sup>Department of Medicine, Universitat de València, Valencia, Spain

**Acknowledgements** The authors thank the patients and healthy relatives for having participated in this project. We are grateful to the Eurobiobank CIBERER and the Biobank La Fe for their participation in the collection and processing of patient samples. We also thank the technicians at the Department of Genomics and Translational Genetics (CIPF) who participated in the quality control and processing of DNA samples (Virginia Rejas and Laura Ramirez), and the Bachelor's thesis student Andrea Ballester who helped with some clinical data collection.

**Contributors** VL and TS conceived the study. VL, TS and MF participated in the study design and in the draft of the manuscript. VL, AS-M, MDM-R and CE performed, collected and implemented the genetic studies. MF, ALP-N, TG-S, MJS, JP, MM, JG-G, MJS, MJC, JJV and JFV-C performed, collected and implemented the clinical studies. All authors approved the final version of the manuscript.

**Funding** This project was funded by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), FEDER (Grants no. PI12/00946 and PI16/00403 to TS, PI15/00187 to CE). MF holds a grant funded by the IIS La Fe (Grant no. 2015/0085). AS-M holds a grant funded by the Fundació Per Amor a l'Art (FPAA). JFV-C holds a 'Rio Hortega' contract funded by the ISCIII.

**Competing interests** None declared.

**Patient consent** Not required.

**Ethics approval** Hospital Universitari i Politécnic La Fe, Valencia, Spain; Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander, Spain.

**Provenance and peer review** Not commissioned; externally peer reviewed.

## REFERENCES

- Sivera R, Sevilla T, Vilchez JJ, Martínez-Rubio D, Chumillas MJ, Vázquez JF, Muelas N, Bataller L, Millán JM, Palau F, Espinós C. Charcot-Marie-Tooth disease: genetic and clinical spectrum in a Spanish clinical series. *Neurology* 2013;81:1617–25.
- Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ, Feely SM, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011;69:22–33.
- Murphy SM, Laura M, Fawcett K, Pandraud A, Liu YT, Davidson GL, Rossor AM, Polke JM, Castelman V, Manji H, Lunn MP, Bull K, Ramdharry G, Davis M, Blake JC, Houlden H, Reilly MM. Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes and guidelines for genetic testing. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012;83:706–10.
- Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH. Inherited neuronal degeneration and atrophy affecting peripheral motor, sensory and autonomic neurons. In: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, eds. *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1975:825–67.
- Bennett CL, Lawson VH, Brickell KL, Isaacs K, Seltzer W, Lipe HP, Weiss MD, Carter GT, Flanagan KM, Chance PF, Bird TD. Late-onset hereditary axonal neuropathies. *Neurology* 2008;71:14–20.
- Rajabally YA, Adams D, Latour P, Attarian S. Hereditary and inflammatory neuropathies: a review of reported associations, mimics and misdiagnoses. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016;87:1051–60.
- Higuchi Y, Hashiguchi A, Yuan J, Yoshimura A, Mitsui J, Ishiura H, Tanaka M, Ishihara S, Tanabe H, Nozuma S, Okamoto Y, Matsuura E, Ohkubo R, Inamizu S, Shiraishi W, Yamasaki R, Ohyagi Y, Kira J, Oya Y, Yabe H, Nishikawa N, Tobisawa S, Matsuda N, Masuda M, Kugimoto C, Fukushima K, Yano S, Yoshimura Y, Doi K, Nakagawa M, Morishita S, Tsuji S, Takashima H. Mutations in MME cause an autosomal-recessive Charcot-Marie-Tooth disease type 2. *Ann Neurol* 2016;79:659–72.
- Auer-Grumbach M, Toegel S, Schabhüttl M, Weinmann D, Chiari C, Bennett DLH, Beetz C, Klein D, Andersen PM, Böhme I, Fink-Puches R, Gonzalez M, Harms MB, Motley W, Reilly MM, Renner W, Rudnik-Schöneborn S, Schlöter-Weigel B, Themistocleous AC, Weishaup JH, Ludolph AC, Wieland T, Tao F, Abreu L, Windhager R, Zitzelsberger M, Strom TM, Walther T, Scherer SS, Züchner S, Martini R, Senderek J. Rare Variants in MME, Encoding Metalloprotease Nephrylin, Are Linked to Late-Onset Autosomal-Dominant Axonal Polyneuropathies. *Am J Hum Genet* 2016;99:607–23.
- Sivera R, Espinós C, Vilchez JJ, Mas F, Martínez-Rubio D, Chumillas MJ, Mayordomo F, Muelas N, Bataller L, Palau F, Sevilla T. Phenotypical features of the p.R120W mutation in the GDAP1 gene causing autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst* 2010;15:334–44.
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405–23.
- Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, Rahmani Z, Krizus A, McKenna-Yasek D, Cayabyab A, Gaston SM, Berger R, Tanzi RE, Halperin JJ, Herzfeldt B, Van den Bergh R, Hung W-Y, Bird T, Deng G, Mulder DW, Smyth C, Laing NG, Soriano E, Pericak-Vance MA, Haines J, Rouleau GA, Gusella JS, Horvitz HR, Brown Jr RH. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993;362:59–62.
- Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O'Donnell-Luria AH, Ware JS, Hill AJ, Cummings BB, Tukiainen T, Birnbaum DP, Kosmicki JA, Duncan LE, Estrada K, Zhao F, Zou J, Pierce-Hoffman E, Berghout J, Cooper DN, DeLlaux N, DePristo M, Do R, Flannick J, Fromer M, Gauthier L, Goldstein J, Gupta N, Howrigan D, Kiezun A, Kurki MI, Moonshine AL, Natarajan P, Orozco L, Peloso GM, Poplin R, Rivas MA, Ruano-Rubio V, Rose SA, Ruderfer DM, Shakir K, Stenson PM, Stevens C, Thomas BP, Tiao G, Tusie-Luna MT, Weisburd B, Won HH, Yu D, Altshuler DM, Ardissino D, Boehnke M, Danesh J, Donnelly S, Elosua R, Florez JC, Gabric SB, Getz G, Glatt SJ, Hultman CM, Kathiresan S, Laakso M, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Neale BM, Palotie A, Purcell SM, Saleheen D, Scharf JM, Sklar P, Sullivan PF, Tuomilehto J, Tuomari M, Watkins HC, Wilson JG, Daly MJ, MacArthur DG. Exome Aggregation Consortium. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016;536:285–91.
- Sevilla T, Lupo V, Martínez-Rubio D, Sancho P, Sivera R, Chumillas MJ, García-Romero M, Pascual-Pascual SI, Muelas N, Dopazo J, Vilchez JJ, Palau F, Espinós C. Mutations in the MORC2 gene cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2016;139:62–72.
- Turner AJ, Isaac RE, Coates D. The nephrylin (NEP) family of zinc metalloendopeptidases: genomics and function. *Bioessays* 2001;23:261–9.
- Cadoni A, Mancardi GL, Zaccaro D, Nocera A, Barocci S, Bianchini D, Schenone A, Capello E, Zicca A. Expression of common acute lymphoblastic leukemia antigen (CD 10) by myelinated fibers of the peripheral nervous system. *J Neuroimmunol* 1993;45:61–6.
- Turner AJ, Tanzawa K. Mammalian membrane metalloproteases: NEP, ECE, KELL, and PEX. *Faseb J* 1997;11:355–64.
- Fukami S, Watanabe K, Iwata N, Haraoka J, Lu B, Gerard NP, Gerard C, Fraser P, Westaway D, St George-Hyslop P, Saido TC. Abeta-degrading endopeptidase, nephrylin, in mouse brain: synaptic and axonal localization inversely correlating with Abeta pathology. *Neurosci Res* 2002;43:39–56.
- Walther T, Albrecht D, Becker M, Schubert M, Kouznetsova E, Wiesner B, Maul B, Schliebs R, Grecksch G, Fürtak J, Sterner-Kock A, Schultheiss HP, Becker A, Siems WE. Improved learning and memory in aged mice deficient in amyloid beta-degrading neutral endopeptidase. *PLoS One* 2009;4:e4590.
- Madani R, Poirier R, Wolfer DP, Welzl H, Groscurth P, Lipp HP, Lu B, El Mouedden M, Mercken M, Nitsch RM, Mohajeri MH. Lack of nephrylin suffices to generate murine amyloid-like deposits in the brain and behavioral deficit in vivo. *J Neurosci Res* 2006;84:1871–8.

## ANEXO III: CUADERNO RECOGIDA DE DATOS

### CUADERNO RECOGIDA DATOS

Fecha y lugar de nacimiento:.....

Lugar de nacimiento padres:.....

Sexo: 1- hombre 2- mujer

Etnia:

### ANTECEDENTES PERSONALES:

Diabetes No Sí T evolución \_\_\_\_\_

Intervenciones quirúrgicas

No Sí Tipo

Otros: \_\_\_\_\_

### ANTECEDENTES FAMILIARES NEUROPATÍA

### CARACTERÍSTICAS NEUROPATIA

#### Tipo:

1- Desmielinizante

2- Axonal

3- Intermedio

#### Modo de herencia:

1- AD (transmisión H-H)

2- Dominante (no transmisión H-H)

3- Ligada X

4- AR (ambos padres examinados)

5- AR (padres no examinados o solo uno)

6- Esporádico (ambos padres examinados)

7- Esporádico (padres no examinados o solo uno)

### CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA NEUROPATÍA

Inicio de la marcha:.....

Síntomas: No Si

#### Inicio de los síntomas:

1- nacimiento /primeros meses

2- retraso desarrollo motor (anda >18m)

3- de 2-10 años

4- de 11-20 años

5- de 21-30 años

6- de 31-40 años

7- mayores de 40 años

8-Incapaz de precisar



## SÍNTOMAS NEUROPÁTICOS

### 1. SENSITIVOS No Sí

#### Positivos

- a) Dolor
- b) Parestesias

#### Negativos

- Falta de tacto o acorchamiento
- Menor percepción de estímulos dolorosos
- Alteración en la percepción de la temperatura
- Sensación de caminar sobre algodones
- Inestabilidad para caminar

### 1.2. LOCALIZACIÓN

Miembros inferiores

Miembros superiores

### SÍNTOMAS AUTONÓMICOS No Sí (describir)

### SÍNTOMAS MOTORES No Sí

- debilidad manos
- pérdida masa muscular
- tropiezos y caídas frecuentes
- dificultad subir escaleras
- pie caído
- poco equilibrio
- dificultad para caminar
- calambres
- otros

### EXPLORACIÓN FÍSICA (fecha):

#### ESCALA MRC

Facial D/I:

Separación hombros D/I:

Flexión codo D/I: Extensión codo D/I:

Extensión muñeca D/I: Flexión muñeca D/I:

Flexión dedos D/I: Extensión dedos D/I:

Oposición pulgar D/I: Ms intrínseca mano: D/I

Flexión cadera D/I: Extensión cadera D/I:

Flexión rodilla D/I: Extensión rodilla D/I:

Flexión tobillo D/I: Extensión tobillo D/I:

Eversión D/I: Inversión D/I:

Flexión dedos D/I: Extensión dedos D/I:

Extensión dedo gordo D/I:

#### Atrofia MS:

Humeral

Antebrazo

Ms intrínseca manos

No hay

#### Atrofia MI:

Proximal

1/3 inferior muslo y piernas



Pierna grupo anteroexterno

Pierna posterior

Pie

**TEMBLOR:**

EESS

EEII

**REFLEJOS:** 0= ausente, 1=reducido, 2=normal, 3=vivos RCP (0=extensor, 1=equivoco, 2=flexor)

Reflejos MSD/MSI:

R. rotuliano D/I:

R. aquileo D/I:

RCP:

**SENSIBILIDAD** (según modalidad afecta)

1- tacto

6- dolor + vibratoria + tacto

2- dolor

7- dolor + vibratoria + tacto + posición

3- normal

8- dolor + vibratoria + posición

4- vibratoria

9- dolor + tacto

5- dolor y vibratoria 0- no figura

Sensibilidad MSD/MSI:

Sensibilidad MID/MII:

**DEFORMIDADES:**

Retracción aquilea: 1-sí 2- no

Pies cavos: 0- no 1- ligero 2- moderado 3- grave

Mano en garra: 1-sí 2- no

Escoliosis: 1-sí 2- no

Hipoacusia: 1-sí 2- no

Disfonía: 1-sí 2- no

Otros (especificar): (Atrofia óptica, pupilas, distaría, nistagmus, RCP, Romberg)

**ESCALA FUNCIONAL:**

0= movilidad normal

1= normal, pero calambres o fatiga

2= movilidad anormal, incapaz correr

3= andar difícil pero posible sin ayuda (ortesis, bastón)

4= capaz de caminar con ortesis tobillo o zapatos ortopédicos

5 = anda con bastón

6= andar con muletas

7= andar con andador

8= silla de ruedas

**ESCALA SHY-CMTNS2:**

**ESCALA CMTES:**

**ESCALA DE GRAVEDAD CLÍNICA:**

**EMG:**

**CONDUCCIONES SENSITIVAS:** Normal/Anormal

N. Mediano

Amplitud

Velocidad de conducción

N.Cubital

Amplitud  
Velocidad de conducción

N.Sural

Amplitud  
Velocidad de conducción

N Peroneal Superficial

Amplitud  
Velocidad de conducción  
Otros:

**CONDUCCIONES MOTORAS:** Normal/Anormal

N. Mediano

Amplitud  
Latencia distal  
Velocidad de conducción  
Bloqueo conducción

N. Cubital

Amplitud  
Latencia distal  
Velocidad de conducción  
Bloqueo conducción

N. Peroneal

Amplitud  
Latencia distal  
Velocidad de conducción  
Bloqueo conducción

N. Tibial

Amplitud  
Latencia distal  
Velocidad de conducción

Otros nervios:

Estudio onda F

**CK: (valores)**

**RM muscular (fecha):**

**Biopsia nervio (fecha):** 1- sí 2- no

**Biopsia musculo (fecha):** 1-si 2-no

**Genética molecular (fecha):**

# ANEXO IV: DICTAMEN COMITÉ ÉTICA



XUNTA DE GALICIA  
CONSELLERÍA DE SANIDADE  
Secretaría Xeral

Secretaría Técnica CAEI Galicia  
Secretaría Xeral  
Edificio Administrativo de San Lazarro  
15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA  
Tlf: 881 546425 Fax: 881 541804  
ceic@sergass.es



## DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Carlos Rodríguez Moreno, Presidente/a del Comité de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo

### CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 16/12/2015 el estudio:

**Título:** Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth: caracterización clínica, electrofisiológica y molecular en población gallega  
**Promotor:** Tania García Sobrino  
**Tipo de estudio:** Outros  
**Version:**  
**Código del Promotor:**  
**Código de Registro:** 2015/720

Y, tomando en consideración las siguientes cuestiones:

- La pertinencia del estudio, teniendo en cuenta el conocimiento disponible, así como los requisitos legales aplicables, y en particular la Ley 14/2007, de investigación biomédica, el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, la ORDEN SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las Directrices sobre estudios Posautorización de Tipo Observacional para medicamentos de uso humano, y el la Circular nº 07 / 2004, investigaciones clínicas con productos sanitarios.
- La idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, justificación de los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, así como los beneficios esperados.
- Los principios éticos de la Declaración de Helsinki vigente.
- Los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité.

Emite un **INFORME FAVORABLE\*** para la realización del estudio por **el/la investigador/a del centro:**

Centros	Investigadores Principales
C.H. Universitario de Santiago	Tania García Sobrino

\* Solicitamos que en el segundo párrafo de la página 6 del protocolo, elimine lo referente a la cesión con datos asociados a muestras ya que tal y como indican en el párrafo primero, "Sólo el equipo investigador y las autoridades sanitarias, que tienen deber de guardar la confidencialidad, tendrán acceso a todos los datos recogidos para el estudio. Sólo se podrá transmitir a terceros información que no pueda ser identificada."

Solicitamos que en el segundo párrafo de las consideraciones éticas y legales se sustituya "en el RD 1301/2006, de 10 de noviembre, que establece normas de calidad y seguridad para la donación, recolección, evaluación, procesamiento, preservación, almacenamiento y distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en seres humanos" por "y en RD-Ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en seres humanos" Ya que el RD que mencionan en el protocolo ha sido declarado nulo por insuficiencia de rango respecto al nuevo RD-Ley («BOE» núm. 163, de 5 de julio de 2014, páginas 52716 a 52763).

NOMBRE RODRIGUEZ  
MORENO CARLOS  
NIF 05614327G

Empleo digitalizado por ROBORE  
RODRIGUEZ MORENO CARLOS - NIF  
05614327G  
NOMBRE MORENO CARLOS - NIF  
05614327G  
NOMBRE RODRIGUEZ MORENO CARLOS - NIF  
05614327G  
NOMBRE CARLOS - NIF 05614327G  
NOMBRE CARLOS - NIF 05614327G

