

# **Análisis genético y molecular de las enfermedades neurológicas hereditarias**

Dr. Francesc Palau  
*Unidad de Genética,  
Hospital Universitari La Fe, Valencia  
Departamento de Genética,  
Facultad de Ciencias Biológicas,  
Universitat de València.*

## **1. Introducción**

Las enfermedades neurológicas hereditarias (ENH) no son muy frecuentes cuando se las considera individualmente, sin embargo, como grupo constituyen una carga importante de incapacidad física y mental, entre otras cosas por la falta de terapéuticas eficaces y por sus característica de ser transmitidas a la descendencia. La prevalencia de estos trastornos en el País de Gales es del orden de 1 cada 1.700 habitantes (1). Además, suponen más del 50% de los motivos de consulta en los servicios de genética clínica. Ello hace que la neurogenética dentro de la Neurología y, en general, en la Medicina, haya sido uno de los campos donde más se ha avanzado en las investigaciones y aplicaciones de la genética molecular humana. Fue precisamente una enfermedad neurológica, la enfermedad de Huntington, la primera en ser localizada en un cromosoma -4p16- en el año 1983 (2), utilizando la tecnología del ADN recombinante y el descubrimiento de los marcadores polimórficos del ADN debido a la presencia o ausencia de sitios de restricción (FRLP) en la población general.

La pauta general en el diagnóstico de la enfermedades neurológicas, paso previo para un correcto plan terapéutico individual y familiar, se basa en cuatro aspectos fundamentales:

- 1) la anamnesis dirigida destacando la edad de inicio y los síntomas con los que debutó la enfermedad;
- 2) la exploración neurológica sistemática atendiendo los distintos niveles, cognitivo, funciones cerebrales, funciones bulbar y medular, y sistema neuromuscular;
- 3) exploraciones complementarias que aporten información anatómica (TAC y RMN), fisiológica (EEG, velocidades de conducción nerviosa, electromiograma, etc.) e histológica; y
- 4) genealógica, con información de todas las ramas familiares y descripción de posibles trastornos.

Esta estrategia clínica ha permitido definir entidades nosológicas bien diferenciadas. Sin embargo, hay cuadros clínicos muy similares entre sí pero con evidencias de que las causas son distintas, tal como ocurre entre la distrofia muscular de Becker, una distrofinopatía por mutaciones en el gen distrofina sito en Xp21, y las distrofias musculares tipo cinturas autosómico recesivas, cajón de sastre en el que ya se va describiendo distintos genes. Estas dificultades diagnósticas han impedido, en ocasiones, realizar un correcto consejo genético; es más, la falta de un conocimiento etiológico y de disponibilidad de marcadores biológicos adecuados no permitía pasar del consejo basado en riesgos probabilísticos ni, por supuesto, ofrecer un diagnóstico prenatal.

El desarrollo de la genética molecular humana durante los últimos doce años está permitiendo conocer las causas genéticas de las enfermedades neurológicas y disponer de herramientas para el análisis molecular, aplicables al estudio de portadores y al diagnóstico prenatal. Son ya muchas las ENH que se han beneficiado de las investigaciones genéticas y muchos los enfermos y familiares a los que se puede ofrecer diagnósticos moleculares muy precisos.

En la actualidad hay más de 130 enfermedades de interés neurológico cuyo defecto génico, conocido o no, ha sido cartografiado a lo largo del genoma humano (3). En parte son enfermedades metabólicas como la fenilcetonuria, en la fenilalanina no se metaboliza a tirosina por defecto de la enzima fenilalanina hidroxilasa, acumulándose el aminoácido en el tejido nervioso y generando un cuadro clínico de retraso mental. Sin embargo, el mayor beneficio obtenido en el conjunto de las ENH ha sido la aplicación de la estrategia de la clonación posicional (4), esto es, la localización cromosómica de los genes causantes de enfermedades sin previo conocimiento del

defecto bioquímico que subyace en el proceso patológico. De este modo, se han localizado trastornos como la enfermedad de Huntington en el cromosoma 4p16 (2), las ataxias hereditarias autosómico dominantes en los cromosomas 6p, 12q, 14q, 11 y 16q (5), las neuropatías sensitivo-motoras en 17p, 1q, 8q y Xq (6), las distrofias musculares en Xp, 13q y 9q (7), o los retrasos mentales ligados al cromosoma X (8). Desde un punto de vista práctico hay que considerar el diagnóstico molecular teniendo en cuenta dos aspectos:

1) Tipo de diagnóstico genético, el cual se puede dividir:

a) directo: análisis de mutaciones

b) indirecto: análisis de ligamiento con marcadores polimórficos

2) ¿Cuál es el conocimiento actual que se tiene de las bases genéticas de la enfermedad?.

Si el gen se conoce, es posible realizar un análisis mutacional, e, incluso, el estudio de la proteína defectuosa (9). Si, por el contrario, todavía no se ha aislado el gen pero este está localizado, se puede practicar un análisis de ligamiento con los marcadores ligados.

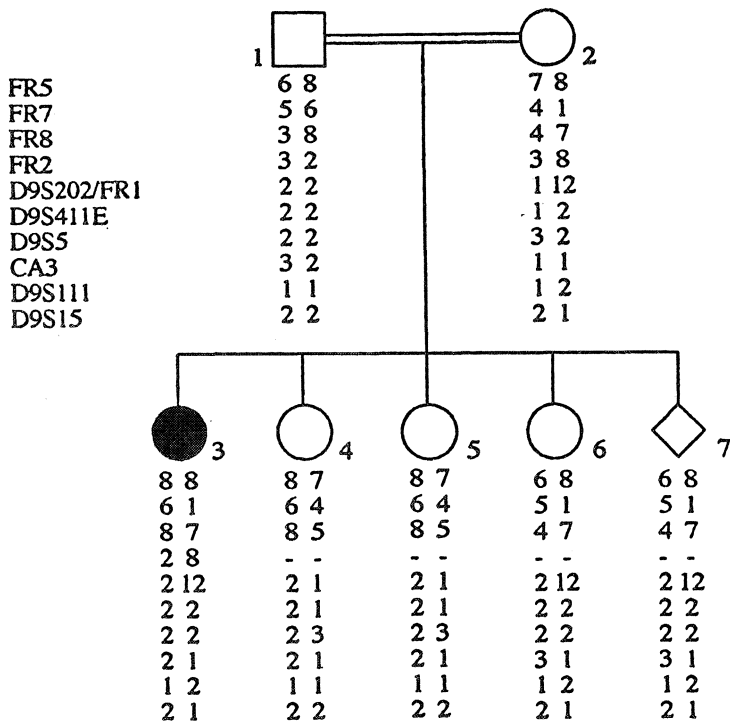
## 2. Análisis de ligamiento

Esta técnica genética se basa en el fenómeno mendeliano de la segregación conjunta de genes cercanos físicamente en el mismo cromosoma y en la disponibilidad de marcadores polimórficos distribuidos a lo largo del genoma (10). En un análisis de ligamiento familiar cada miembro de la familia se valora tanto para la presencia de manifestaciones clínicas como para el *locus* marcador ligado al gen en cuestión. Cuanto más cercanos estén entre sí el *locus* marcador y el *locus* génico menos probable es que se segreguen independientemente durante la meiosis, esto es, hay una menor probabilidad de que se haya producido una recombinación entre ellos. Este hecho se puede utilizar para definir en una familia qué alelo del marcador segrega junto al alelo mutante responsable de la enfermedad. La fracción de recombinación indica la distancia genética que hay entre los dos *loci*. La distancia genética se mide en centiMorgans (cM), unidad que se define como un segmento cromosómico que tiene un 1% de probabilidad de recombinarse en una meiosis.

La aplicación adecuada del análisis de ligamiento en la clínica depende de varios factores: es crucial que el diagnóstico sea correcto; el gen de la enfermedad ha de estar localizado, disponiéndose de marcadores estrechamente ligados; no debe haber heterogeneidad genética para el fenotipo de la enfermedad; los marcadores en cuestión han de ser informativos, es decir, los miembros de la familia deben ser heterocigotos; y las relaciones de parentesco

co, especialmente la paternidad, han de estar bien establecidas. El análisis de ligamiento puede utilizarse para conocer el estado de portador en individuos a riesgo, para el diagnóstico presintomático y para el diagnóstico prenatal. El estudio debe tener en cuenta la herencia con la que se segrega la enfermedad y la distancia genética existente entre el *locus* génico y el marcador. En la Figura 1 se muestra el árbol genealógico de una familia con una hija enferma de ataxia de Friedreich y el resultado del análisis de varios marcadores flanqueantes ligados al gen FRDA en el cromosoma 9q (11). Esta enfermedad se hereda con patrón autosómico recesivo. La madre solicitó diagnóstico prenatal por estar embarazada. A partir de los haplotipos (conjunto de alelos de todos los marcadores) de la hija enferma se dedujo qué haplotipos paterno y materno segregaban con la mutación (ambos padres son portadores heterocigotos de la mutación). El análisis posterior del ADN fetal de vellosidad corial mostró que el feto había heredado el haplotipo ligado al cromosoma no mutante del padre y el haplotipo ligado a la mutación de la madre. Se pudo diagnosticar que el feto era sano portador heterocigoto. La certeza en el diagnóstico fue mayor del 99% dado que los marcadores están situados a menos de 1 cM del gen FRDA y lo flanquean.

Figura 1. Árbol genealógico y haplotipos ligados al locus FRDA para cada miembro de la familia.



El número de ENH que se están asignando a una región cromosómica va en aumento (3). También se ha producido un incremento en la descripción de los genes causantes de las ENH, lo cual permite combinar el análisis de ligamiento con el análisis mutacional. Hay, no obstante, enfermedades de las que sólo se conoce el *locus* cromosómico pero no el gen. En el momento actual en que se ha redactado este manuscrito están aún por aislarse los genes entre las enfermedades neurológicas mayores, la ataxia de Friedreich, la esclerosis tuberosa, la distrofia facioescapulohumeral, diversas formas de distrofia muscular tipo cinturas y las psicosis como la esquizofrenia. Este mismo año se han descrito las mutaciones causantes de la atrofia muscular espinal proximal (12,13) y de la distrofia muscular de Emery-Dreifuss (14).

### 3. Análisis mutacional

Una vez se ha aislado un gen asociado a una enfermedad particular es posible analizar muestras de ADN de individuos enfermos con el fin de encontrar mutaciones. Estas mutaciones pueden ser puntuales, que condicionan una substitución de un aminoácido por otro, o introducir codones stop con una parada prematura de la secuencia de lectura de la transcripción. Otras mutaciones pueden involucrar la delección o la inserción de un número de pares de bases resultando en la disrupción de la función normal del gen, o la delección o duplicación de uno o más exones. Junto a estas mutaciones “clásicas”, en los últimos años se ha descrito otro tipo de mutaciones, no conocido previamente, que consiste en la repetición de tripletes de nucleótidos que se transmiten de manera inestable a la descendencia y se asocian, por el momento, exclusivamente a enfermedades neurológicas (15).

El análisis de mutaciones tiene la ventaja sobre el análisis de ligamiento en el hecho de que es independiente de la estructura familiar y se puede aplicar al estudio de los casos aislados, así como el hecho de que se trata de un estudio directo no dependiente de la tasa de recombinación entre el marcador ligado y el gen de la enfermedad.

### 4. Patología molecular

En la mayoría de la ENH las mutaciones afectan a genes del genoma nuclear, si bien hay que tener en cuenta que existe un conjunto de enfermedades, la miopatías mitocondriales, en las que las mutaciones se localizan en el genoma mitocondrial, por lo que la transmisión de las mismas sigue una herencia mitocondrial, no mendeliana.

Las distrofinopatías conforman un grupo importante de ENH amén de constituir el grupo más prevalente entre las distrofias musculares. Son, ade-

más, un modelo de patología molecular “clásico” entre las ENH. La distrofinopatía más importante y frecuente es la distrofia muscular de Duchenne (DMD). Gracias al descubrimiento del gen DMD (16) y de la proteína para la que codifica, la distrofina (17), mediante clonación posicional, el espectro clínico de las distrofinopatías se ha ampliado a diversas formas alélicas, como son la distrofia muscular de Becker (DMB) (18), el síndrome de mialgias-calambres (19) y la cardiopatía dilatada ligada al cromosoma X (20). En todas estas enfermedades se ha encontrado mutaciones en el gen DMD, principalmente deleciones parciales de uno o varios exones. El número de casos de DMD y DMB con deleciones es del orden del 60%; el resto de los pacientes tiene mutaciones puntuales con substitución de un aminoácido por otro o mutaciones que generan codones stop, mutaciones que rompen la pauta de lectura o mutaciones en los sitios de “splicing” entre exón e intrón (21). El análisis de las deleciones, y también de duplicaciones parciales, ha permitido establecer una relación genotipo-fenotipo en más del 92% de los pacientes con DMD y DMB (22). La deleción o duplicación que rompe la pauta de lectura del gen se asocia habitualmente al fenotipo más agresivo, la DMD, mientras que las deleciones que no rompen la pauta de lectura, y por tanto el gen puede seguir transcribiéndose, se asocian a DMB o formas aún más benignas como el síndrome de mialgias-calambres.

El estudio de las bases moleculares de las ENH no sólo nos ha permitido observar tipos de mutaciones ya descritas en otras enfermedades como las hemoglobinopatías, sino que ha aportado nuevos conocimientos acerca de la biología y la patología de las mutaciones. Dos modelos relevantes son las mutaciones dinámicas (15) y la duplicación/deleción de 1.500 kb asociada a neuropatías periféricas desmielinizantes (23).

## **5. Enfermedades asociadas a mutaciones dinámicas**

Las mutaciones dinámicas se conocen desde hace cuatro años cuando se describió por vez primera la asociación de un triplete CGG inestable al síndrome del cromosoma X frágil o FRAXA (24). El número de ENH asociadas a este tipo de mutación ha ido en aumento y en la actualidad se conocen 8 de ellas, FRAXA (24), retraso mental FRAXE (25), distrofia miotónica (DM) (26), enfermedad de Huntington (EH) (27), ataxias espinocerebelosas tipo 1 (SCA1) (28) y tipo 3 o Machado-Joseph (SCA3/MJD) (29), atrofia bulboespinal o síndrome de Kennedy (AMBE) (30) y atrofia dentatorrubro-palidoluisiana (ADRPL) (31). El fenómeno mutacional es el mismo, con algunas variantes, en todas ellas: el número de trinucleótidos en repetición, variable en la población general dentro de un rango específico para cada una de ellas, es patológico a partir de un umbral de repeticiones, también variable para cada

enfermedad. En la tabla I se indica las características básicas de cada una de estas mutaciones.

**TABLA I.**

**Características moleculares de las enfermedades por mutaciones dinámicas**

| Enfermedad                                    | Repetición | Longitud | repetición*  | Producto génico        |           |
|---|------------|----------|--------------|------------------------|-----------|
| Atrofia muscular espinal y bulbar ligada al X | CAG        | Normal:  | 11-34        | Receptor androgénico   |           |
|   |            |          | Enferm:      |                        | 40-62     |
| Síndrome X frágil, FRAXA                      | CGG        | Normal:  | 6-50         | Proteína FMR-1         |           |
|   |            |          | Premutación: |                        | 52-200    |
|   |            |          | Enferm:      |                        | 200->1000 |
| Distrofia miotónica                           | CTG        | Normal:  | 5-30         | Miotonin proteincinasa |           |
|   |            |          | Premutación: |                        | 42-180    |
|   |            |          | Enferm:      |                        | 200->1000 |
| Enfermedad de Huntington                      | CAG        | Normal:  | 11-34        | Huntingtina            |           |
|   |            |          | Enferm:      |                        | 37-121    |
| Ataxia cerebelosa SCA1                        | CAG        | Normal:  | 19-36        | Ataxina-1              |           |
|   |            |          | Enferm:      |                        | 43-81     |
| Ataxia cerebelosa SCA3/MJD                    | CAG        | Normal:  | 13-36        | ?                      |           |
|   |            |          | Enferm:      |                        | 68-79     |
| Retraso mental FRAXE                          | GCC        | Normal:  | 6-25         | ?                      |           |
|   |            |          | Enferm:      |                        | >200      |
| Atrofia dentatorrubro-palidoluisiana          | CAG        | Normal:  | 7-23         | ?                      |           |
|   |            |          | Enferm       |                        | 49-75     |

A=adenina, C=citosina, G=guanina, T=timina

\* N° de tripletes repetidos

Estas enfermedades debidas a mutaciones dinámicas tienen varias cosas en común, tal cual son la inestabilidad genética intergeneracional, la anticipación y el sesgo sexual del progenitor en la transmisión intergeneracional. La mutación se transmite entre generaciones con tendencia a expandirse, aunque en ocasiones se ha observado contracciones. El incremento en el tamaño de la repetición entre generaciones sucesivas explica el fenómeno clínico y genealógico de la anticipación. Esta se define como el aumento de la gravedad del cuadro clínico y la aparición más precoz de los síntomas conforme se desciende en el árbol familiar hacia las generaciones más jóvenes. Este fenómeno de anticipación también se asocia al sesgo sexual entre los progenitores de los pacientes con formas más graves. En el caso de la distrofia miotónica, los niños con la forma congénita casi siempre reciben la muta-

ción expandida de la madre portadora que tiene una forma clásica de la enfermedad. En el caso de la EH, SCA1 y la ADRPL es el padre el transmisor de la mutación expandida. En general, las formas clínicas más graves, infantiles o juveniles, tienen expansiones mucho mayores que las formas clásicas de inicio en la edad adulta. En definitiva, se ha demostrado que existe una correlación entre el tamaño de la expansión de la mutación y la expresión clínica de la enfermedad. Las enfermedades por mutaciones dinámicas las podemos clasificar en dos tipos siguiendo los criterios expuestos en la tabla II.

**TABLA II.****Clasificación de las enfermedades por mutaciones dinámicas**

|                                  | Tipo I                     | Tipo II                                      |
|----------------------------------|----------------------------|--|
| Enfermedades representativas     | AMBE, EH, SCA1, SCA3/MJD   | FRAXA, FRAXE, DM                             |
| Repetición                       | CAG                        | CGG o CTG                                    |
| Grado de inestabilidad           | Moderado                   | Altamente inestable                          |
| Repetición traducida en proteína | Sí                         | No   |
| Patrón de la patología           | Neuronas específicas       | Trastorno multisistémico                     |
| Mecanismo propuesto              | Ganancia de función tóxica | Expresión alterada del producto génico o RNA |

## 6. La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) representa el trastorno hereditario más frecuente que afecta al nervio periférico. Se trata de una neuropatía sensitiva y motora que muestra heterogeneidad clínica y genética (6). Entre de los aspectos más interesantes de la CMT cabe destacar esta gran heterogeneidad genética, los tipos de mutación subyacentes a la patología molecular y su valor como modelo para los estudios de correlación el genotipo y el fenotipo.

La CMT se puede clasificar ateniéndose a criterios electrofisiológicos e histológicos en dos tipos, manifestándose ambos como un síndrome de atrofia peroneal: CMT tipo 1 o desmielinizante y CMT tipo 2 o neuronal. Ambas formas tienen una causa genética distinta, lo que constituye un primer nivel de heterogeneidad.

La CMT1 es la más prevalente de las dos. Hasta el momento se han descrito cuatro *loci* (6): CMT1A, en el cromosoma 17p11.2, CMT1B en 1q22-q23, CMT1C todavía no localizado, entre las familias en que CMT1 se segrega con carácter autosómico dominante, y CMTX en Xq13. Hay familias en



las que la herencia es autosómico recesiva. Para este tipo de herencia se ha descrito un *locus*, CMT4A, en el cromosoma 8q (32). CMT1A es la forma más frecuente. En este *locus* se ha descrito una duplicación en tándem de 1.500 kb que constituye el 70% de todas las mutaciones asociadas a la CMT1 (33,34). En el interior de la duplicación se encuentra el gen de la proteína periférica de la mielina, PMP-22. Se trata de un gen con cuatro exones y que codifica para una proteína con cuatro dominios de membrana. En este gen se ha descrito mutaciones puntuales en casos en los que no se ha detectado la duplicación (6), involucrándolo en la patogénesis de la enfermedad. El fenotipo que produce la duplicación no se diferencia, aparentemente, del que se asocia a las mutaciones puntuales. Sin embargo, el mecanismo patogénico de la duplicación es distinto, postulándose un fenómeno de dosis génica o ganancia de función para la misma (35).

La duplicación se origina mediante un entrecruzamiento desigual entre cromátides no hermanas durante la meiosis, principalmente en la espermatogénesis (36). En cada familia en la que la duplicación segrega con carácter autosómico dominante, la mutación se originó como mutación de novo en un ancestro más o menos lejano en las generaciones anteriores. El mecanismo de producción de la duplicación presupone la generación de un segundo producto del entrecruzamiento desigual. Junto con la duplicación se forma también una delección recíproca de 1.500 kb. Esta mutación se ha visto, más recientemente, que se asocia a otro tipo de neuropatía, la neuropatía hereditaria por susceptibilidad a la parálisis por presión (NHPP) o neuropatía tomacular (37). Este trastorno es también una neuropatía desmielinizante, aunque es distinto en los aspectos clínico, electrofisiológico e histológico a la CMT1.

Los genes de los *loci* CMT1B y CMTX también se han aislado. El gen de CMT1B es el gen de la proteína Pzero (P0) que es la proteína más prevalente en el sistema nervioso periférico. P0 es una proteína con un dominio transmembránico y un dominio extracelular con similitudes a los dominios de la superfamilia de la inmunoglobulinas. Se ha descrito mutaciones puntuales en este gen en pacientes con CMT1 (6). El gen causante de la mayoría de casos publicados de CMTX es el gen de la conexina-32 (Cx32). Se trata también de una proteína con un dominio transmembránico. En este gen se han descrito mutaciones puntuales e inserciones de un número pequeño de nucleótidos (6). La conexina 32 forma parte de un grupo de proteínas, los conexones, que constituyen semicanales en la zona de unión intermembranosa de las células ("union gaps"). La conexina 32 está preferentemente localizada en los nódulos de Ranvier de los nervios periféricos.

Existe otra neuropatía desmielinizante, la enfermedad de Déjérine-Sottas, que se asemeja a la CMT1 pero cuya expresión clínica es mucho más agresiva que esta última. En pacientes con DS se ha publicado mutaciones puntuales en los genes PMP-22 y P0 (6). En realidad se trata de una forma alélica de CMT1.

En resumen, la enfermedad de CMT representa un modelo de trastorno con gran heterogeneidad clínica -CMT1, CMT2, DS, NHPP- y genética, involucrando distintos tipo de genes -heterogeneidad de *locus* o no alélica- y distintas mutaciones -heterogeneidad alélica. La mutaciones varían desde grandes duplicaciones o deleciones, casi en el rango de reconocimiento citogenético, y mutaciones puntuales, y, dependiendo del tipo de mutación, se puede encontrar distintos fenotipos clínicos y distintos patrones mendelianos de transmisión, autosómicos dominante y recesivo, y ligado al X. Además los casos esporádicos con la duplicación del *locus* CMT1A son relativamente frecuentes.

La investigación de las bases moleculares de las ENH ha aportado nuevos conocimientos acerca de la biología de las mutaciones y de la comprensión de la patología molecular de estas enfermedades. El camino hacia nuevas formas de terapia, sea farmacológica o génica, ha quedado abierto. Con todo, la aplicación clínica inmediata está siendo el consejo genético y el diagnóstico prenatal con información directa de los genes mutantes.

## 7. Referencias

1. MacMillan JC, Harper PS. (1994) Clinical genetics in neurological disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 57:7-15
2. Gusella JF, Wexler NS, Conneally PM et al. (1983) A polymorphic marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature* 306:234-238
3. Rosenberg RN (1993) A neurological gene map. *Arch Neurol* 50:1269-1271
4. Collins FS (1995) Positional cloning moves from perdictional to traditional. *Nat Genet* 9:347-350
5. Rosenberg RN (1995) Autosomal dominant cerebellar phenotypes: the genotype has settled the issue. *Neurology* 45:1-5
6. Roa BB, Lupski JR (1994) Molecular genetics of Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Adv Hum Genet* 22:117-152
7. Campbell KP (1995) Three muscular dustrophies: loss of cytoskeleton-extracellular matrix linkage. *Cell* 80:675-679

8. Neri G, Chiurazzi P, Arena JF, Lubs HA (1994) XLMR genes: update 1994. *Am J Med Genet* 51:542-549
9. Hoffman EP, Fischbeck KH, Brown RH et al. (1988) Characterization of dystrophin in muscle biopsies from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 53:219-228
10. Gyapay G, Morissette J, Vignal A et al. (1994) The 1993-94 Généthon human genetic linkage map. *Nat Genet* 7:246-339
11. Monrós E, Smeyers P, Ramos MA, Prieto F, Palau F (1995) Prenatal diagnosis of Friedreich ataxia: improved accuracy by using new genetic flanking markers. *Pren Diagn* (en prensa)
12. Lefreve S et al. (1995) Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 80:1-20
13. Roy N et al. (1995) The gene for neuronal apoptosis inhibitory protein is partially deleted in individuals with spinal muscular atrophy. *Cell* 80:21-
14. Bione S, Maestrini E, Rivella S et al. (1994) Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 8:323-327
15. La Spada AR, Paulson HL, Fischbeck KH (1994) Trinucleotide repeat expansion in neurological disease. *Ann Neurol* 36:814-822
16. Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ et al (1987) Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* 50:509-517
17. Hoffman EP, Brown RH, Kunkel LM (1987) Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy gene locus. *Cell* 51:919-928
18. Hoffman EP, Kunkel LM (1989) Dystrophin abnormalities in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Neuron* 2:1019-1029
19. Gospe SM, Lazaro RP, Lava NS et al. (1989) Familial X-linked myalgia and cramps: a nonprogressive myopathy associated with a deletion of the dystrophin gene. *Neurology* 39:1277-1280
20. Muntoni F, Cau M, Ganau A et al. Brief report: Deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 329:921-925
21. Roberts RG, Gardner RJ, Bobrow M (1994) Searching for the 1 in 2,400,000: a review of the dystrophin gene point mutations. *Hum Genet* 4:1-11

22. Koenig M, Beggs AH, Moyer M et al. (1989) The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet* 45:498-506
23. Chance PF, Abbas N, Lensch MW et al. (1994) Two autosomal dominant neuropathies result from reciprocal DNA duplication/deletion of a region on chromosome 17. *Hum Molec Genet* 2:223-228
24. Verkerk AJMH, Pieretti M, Sutcliffe JS et al. (1991) Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 65:905-914
25. Knight SJL, Flannery AV, Hirst MC et al. (1993) Trinucleotide repeat expansion and hypermethylation of a CpG island in FRAXE mental retardation. *Cell* 74:127-134
26. Brook JD, McCurrach ME, Harley HG et al. (1992) Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 68:799-808
27. Huntington's Disease Collaborative Research Group (1993). A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 72:971-983
28. Orr HT, Chung M, Banfi S et al. (1993) Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 4:221-226
29. Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M et al. (1994) CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 8:221-228
30. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB et al. (1991) Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 352:77-79
31. Nagafuchi S, Yanasigawa H, Sato K et al. (1994) Dentatorubral and pallidoluysian atrophy expansion of an unstable CAG trinucleotide on chromosome 12p. *Nat Genet* 6:14-18
32. Ben Othmane K, Hentati F, Lennon F et al. (1993) Linkage of a locus (CMT4A) for autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease to chromosome 8q. *Hum Molec Genet* 2:1625-1628
33. Wise CA, Garcia CA, Davis SN et al. (1993) Molecular analysis of unrelated Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease suggest a high frequency of the CMT1A duplication. *Am J Hum Genet* 53:853-863

34. Bort S, Sevilla T, Vílchez JJ, Prieto F, Palau F (1995) Diagnóstico y prevalencia del locus CMT1A en la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth tipo 1. *Med Clin (Barc)* 104:648-652
35. Lupski JR, Wise CA, Kuwano A et al. (1992) Gene dosage is a mechanism for Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nat Genet* 1:29-33
36. Palau F, Löfgren A, De Jonghe P et al. (1993) Origin of the *de novo* duplication in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: unequal nonsister chromatid exchange during spermatogenesis. *Hum Molec Genet* 2:2031-2035
37. Chance PF, Alderson MK, Lensch W et al. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell* 72:143-151