

GENETICKÁ HETEROGENITA A FENOTYPOVÁ VARIABILITA TZV. ASOCIOVANÝCH PRÍZNAKOV U NEURODEGENERATÍVNYCH OCHORENÍ. PES CAVUS

prof. MUDr. Pavel Varsík, DrSc., MUDr. Zoltán Goldenberg, MUDr. Pavol Kučera, PhD.,
MUDr. Darina Buranová, PhD., prof. MUDr. Pavel Traubner, PhD.

1. neurologická klinika FN a LF UK, Bratislava

Skupina neurodegeneratívnych ochorení sa často ešte i dnes považuje za skupinu diagnosticky kontroverznú pre súčasný výskyt značnej heterogenity z genetického hľadiska (výskyt poruchy na rôznych chromozómových lokusoch) a klinicky značnú fenotypovú variabilitu (okrem klasického klinického symptómového komplexu sa často vyskytujú tzv. syndrómy plus). V diagnostike teda často môžu byť dôležité i tzv. asociované príznaky, medzi ktoré patrí i PES CAVUS, často označovaný i ako Friedreichova noha. Tento príznak sa môže vyskytnúť ako klasická súčasť fenotypu niektorých ochorení (HSMN, Friedreichovej choroby alebo hereditárnej spastickej paraplégie), ale i ako príznak abortívnej formy ochorenia alebo môže byť iba sporadickým izolovaným príznakom. Domnievame sa, že pre klinickú prax je dôležité správne a korektné využitie tohto klinického asociovaného príznaku.

Kľúčové slová: PES CAVUS, genetická heterogenita, fenotypová variabilita, asociované príznaky.

Úvod

Skupina tzv. neurodegeneratívnych ochorení predstavuje i pri súčasných obrovských pokrokoch v genetike a molekulárnej biológii stále ešte pomerne kontroverznú skupinu nervových ochorení alebo celkových ochorení organizmu vrátane porúch nervového systému (NS). Stále existujú v klinike problémy diferenciácie poruchy funkcie NS z hľadiska príčiny jej vzniku: ide o vývojovú poruchu (indukcie, tvorenia neurálnej trubky, regionalizácie a špecifikácie, proliferácie a migrácie, tvorby synapsí a spájania neurónov) v dôsledku zásahu vonkajších vplyvov so sporadickým výskytom alebo či ide o geneticky determinovanú chybu vývoja alebo predestinácie spustenia apoptotických mechanizmov a abiotrofiu nervových a satelitných buniek v NS.

Ďalším problémom je klasifikácia symptomatológie, či ide o symptomatológiu klasicky determinujúcu alebo dokonca stanovujúcu určitú klinickú jednotku (motorické, senzitivne alebo senzorické príznaky) alebo či ide o tzv. asociovaný príznak, ktorý sa pravidelne alebo v určitom percente vyskytuje u určitého ochorenia alebo skupiny ochorení, napr. pes cavus, epilepsia, katarakta, niektoré kožné alebo viscerálne abnormality atď.

V tejto štúdii sme sa zamerali na typický asociovaný príznak: pes cavus, alternatívne nazývaný aj pes arcuatus, excavatus, equinovarus alebo podľa svojho autora Friedreichova noha.

Tento symptóm sa môže vyskytovať v klinickom obraze ako:

- súčasť komplexu príznakov hereditárnych ochorení NS
- izolovaný defekt (abortívny príznak) hereditárneho ochorenia (klinicky inaparentného)
- izolovaný defekt so sporadickým nefamiliárnym výskytom (tzv. idiopatický pes cavus).

Epidemiologické, etiopatogenetické a klinické charakteristiky nás viedli ku pokusu o charakterizovanie genotypových a fenotypových vlastností tohto tzv. asociovaného príznaku degeneratívnych ochorení NS ako samostatného fenoménu (3, 19).

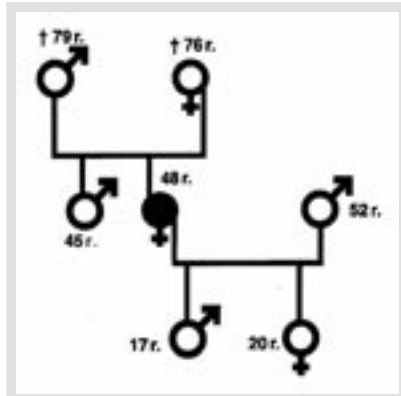
Kazuistiky

Prípad č. 1

U 48-ročnej ženy asi 4–5 rokov liečenej pre parkinsonský syndróm a závraty sa objavili prejavy srdcovej arytmie. Pacientka bola prijatá na kliniku na diagnostický a terapeutický pobyt. V objektívnom náleze pri prijatí bol prítomný ľahký extrapyramídový parkinsonský syndróm, syndróm posterolaterálnej spinálnej lézie (paraparéza mierneho stupňa s areflexiou RŠA a extenčnou plantárnou odpoveďou), skolióza a pes cavus, srdcová arytmia bola klasifikovaná ako prejav poruchy funkcie autonómneho nervového systému (ANS). Dominantným a predtým nediagnostikovaným nálezhom bola spinálna ataxia s poruchou hlbokkej citlivosti.

Podobné ochorenie sa v rodine v minulosti nevyskytlo, rovnako ako u pacientky aj u 20-ročnej dcéry bola zistená porucha rýchlosti vedenia motorických a senzitivných vlákien na dolných končatinách (n. fibularis). Napriek tomu, že sa zvažovala i možnosť multisystémovej atrofie, na základe vyšetrení bol stav uzavretý ako Friedreichova choroba: Friedreichova ataxia tzv. pozdnejšieho typu s obrazom posterolaterálnej spinálnej lézie, skoliózy, pes cavus a dysautonomie s arytmiou ako tzv. syndróm plus: s peroneálnym typom periférnej lézie a parkinsonským syndrómom. Dva týždne po dimisii pacientka náhle exitovala na akútne zlyhanie srdcovej činnosti.

Obrázok 1. Rodokmeň pacienta s Friedreichovou ataxiou



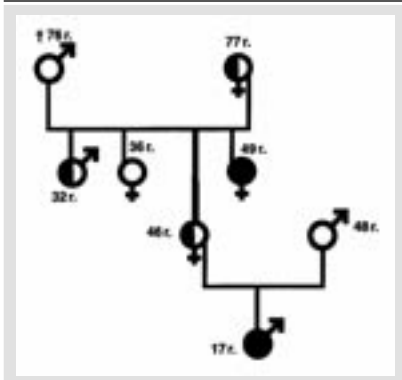
Prípad č. 2

U 17-ročného mladého muža, operovaného v 5. roku života na ľavej nohe pre pes cavus (tenotómia) sa pred rokom objavili poruchy

vedomia s tonicko-klonickými kříčmi končatin. Prijatý bol na kliniku na diagnostický pobyt, vyšetrenie kardiovaskulárnych reflexov nepotvrdilo prítomnosť dysfunkcie ANS, v EEG sa našiel nález potvrdzujúci epileptický charakter poruchy, EMG vyšetrenie potvrdilo poruchu funkcie motoricko-senzitívnych vlákien PNS. Z rodinnej anamnézy je pozoruhodný údaj o výskyte ťažkých prejavov srdcovej arytmie u starej matky (v 40. roku života implantácia kardiostimulátora), v 30-tich rokoch arytmia u matky a strýka, teta pacienta od 10. roku života imobilná s paraplégiou, gibbom a má i pes cavus.

Stav bol uzavretý ako HMSN I. typu s AD typom dedičnosti.

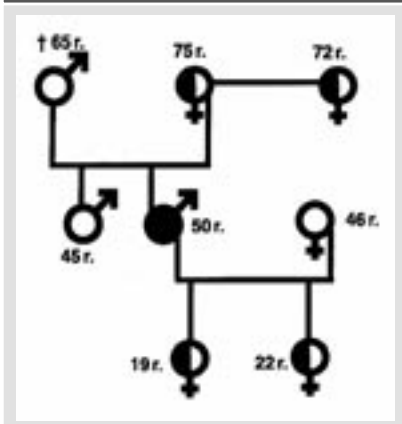
Obrázok 2. Rodokmeň pacienta s HMSN I. typu



Prípad č. 3

U 50-ročného muža asi 30 rokov prítomné ťažkosti pri chôdzi, pred 20 rokmi sa objavili na chodidlách oboch nôh nehojace sa otvorené mokvajúce defekty, 8 rokov trpí na diabetes mellitus. Iba v poslednej dobe má progredujúce poruchy chôdze (predtým aktívne hral futbal) s prejavmi polyneuropatie (prevažne senzitivného typu) a má i pes cavus. Podľa údajov pacienta má pes cavus i jeho matka a jej sestra, u dvoch dcér pacienta zistené známky polyneuropatie podľa porúch rýchlostí vedenia senzitivných vlákien z dolných končatin (n. fibularis). Stav bol uzavretý ako HSAN

Obrázok 3. Rodokmeň pacienta s HSAN I. typu



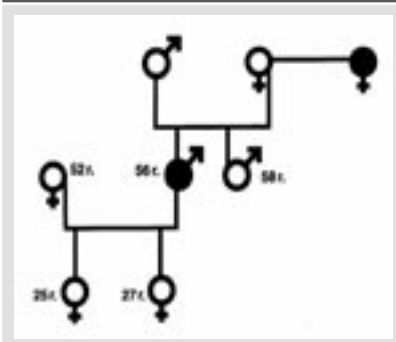
I. typu (ako acropathia ulceromutilans – Thévenardova choroba), poruchu motorických vlákien (areflexia RŠA a kondukčná porucha) boli hodnotené ako pravdepodobná nadstavba lézie PNS pri diabetes mellitus.

Prípad č. 4

U 56-ročného muža od 2. dekády prítomné ťažkosti pri chôdzi s postupnou progresiou, asi 30 rokov má spastickú paraplégiu dolných končatin, od detstva má pes cavus.

Matkina sestra od včasného dospelého veku má spastickú paraplégiu, dve dcéry sú t.č. zdravé. Stav bol uzavretý ako hereditárna spastická paraplégia (HSP).

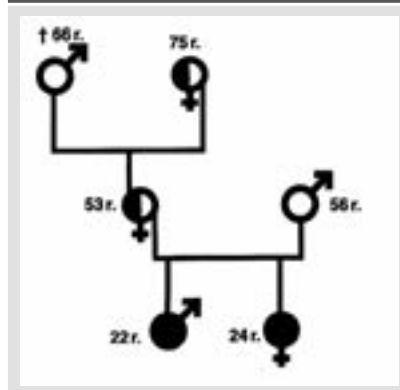
Obrázok 4. Rodokmeň pacienta s HSP



Prípad č. 5

U 24-ročnej ženy od včasného detského veku diagnostikovaná tapetoretinálna degenerácia

Obrázok 5. Rodokmeň pacientky s HCV-RD



rácia, v období juvenilného veku neuronálna sluchová porucha a od 17-tich rokov života záchvaty a parciálne záchvaty s komplexnou symptomatológiou a sporadickou generalizáciou s ťažkým nálezom epileptiformných EEG prejavov. U mladšieho brata od včasného detského veku tapetoretinálna degenerácia a pes cavus s hraničnými EMG prejavmi spomalenia kondukčných rýchlostí z n. fibularis. Biochemické vyšetrenie ukázalo opakovanne hraničnú laktacidózu (svalovú biopsiu pacientka odmietla). Stará matka trpí na hluchotu a demenciu, matka pacientov má neuronálnu sluchovú poruchu a sporadicky sa vyskytujú epileptické záchvaty.

Stav bol uzavretý ako hereditárna kocholeovestibulárna atrofia – tapetoretinálna degenerácia (HCV-RD, Usherov syndróm s

Tabuľka 1. Charakteristiky genetickej poruchy u klinických jednotiek s asociovaným príznakom pes cavus (D – duplikácia, DL – delécia, BM – bodová mutácia, PMP 22 – perif. myelinový proteín, MPZ – myelinový proteín Po, NDRG1-N-myc-„downstream regulated“ gén 1, Cx 32 – connexin 32, EGR – „early growth response 2“, NF-L – „neurofilament light chain“, MPLP – myelinový proteolipidický proteín, AD, AR, X-typ genetického prenosu)

Klin. jednotka	Typ	Lokus	Mutácia	Gén	Lit. cit.
HMSN	IA-AD	17p-11.2	D, DL, BM	PMP 22	6, 18
	IB-AD	1q-22-23	BM	MPZ	4, 20
	I+-AR	8q-24.3	NDRG1		
	I – XR	Xq-13.1	DL, BM	Cx 32	
	I-AD, AR	10q-21-22	BM	EGR	6, 8
	I – AR	5q-23-33			
	IIA-AD	1p-35-36			
	IIB-AD	3q-13-22			
	IID-AD	7p-14			
	IIE-AD	8p-21	BM	NF-L	
FA	AR	9q-13	D (GAA)	Frataxin	1, 6, 11, 14
	X	X25	D, DL, BM	Frataxin	
HSAN	I – AD	9q-22	2, 5, 6, 10		
HSP	AD	2,8,10,12,14,15		Spastin	13, 15, 9, 17
	AR	8,15,16		Spastin	
	X	Xq-28, Xq-22	BM	MPLP	
	Homozygoti	16q-24.3	Paraplegin		
HCV-RD	AD	3p-21q.24	BM		3, 16
	AR	?			
	X	?			
PSSA Ryukyan	AD	?			12

tapetoretinálnou degeneráciou a neuronálnou sluchovou poruchou a s asociovanými prejavmi pes cavus a epilepsie). Podozrenie na mitochondriálne ochorenie sa zatiaľ nepotvrdilo (MELAS).

Táto skupina prípadov bola vybraná s úmyslom prezentovať pes cavus ako súčasť klasického fenotypu alebo ako asociovaný príznak niektorých hereditárných ochorení NS.

Diskusia

Fenómén PES CAVUS bol opísaný r. 1873 Charcotom ako súčasť fenotypu periférnej paraparézy dolných končatín a Friedreichom r. 1876 ako súčasť fenotypu hereditárnej spinálnej ataxie. V súčasnosti sú tieto jednotky označované ako hereditárna motoricko-senzitívna neuropatia (HMSN) a ako Friedreichova choroba alebo Friedreichova spinálna ataxia (FA) (1, 2, 3). Pes cavus podľa Lorraina r. 1898 a Strumpela r. 1904 je súčasťou fenotypu hereditárnej spastickej paraplégie (HSP) a sú doklady o výskyte tohto fenoménu i u familiárnej ulceromutilujúcej akropatie od Thévenarda z r. 1942, v súčasnosti známej ako hereditárna senzitivná – autonómna neuropatia (HSAN I. typu) a u progresívnej spinálnej atrofie typu Ryukyana (PSSA – Ryukyana). Existujú správy o výskyte tejto abnormality nohy i u niektorých metabolických mitochondriálnych a peroxizómových ochorení v spojení s tapeto-retinálnou degeneráciou a Refsumovou chobou (3, 12, 19).

Z hľadiska fenotypu základných a klasických príznakov týchto hereditárných ochorení NS nejde o homogénnu skupinu symptómových zoskupení, i keď za najčastejšie prítomnú môžeme považovať poruchu PNS. Pravdepodobne od tohto faktu sa odvíjal i patomechanizmus vysvetľovania príčiny tejto poruchy v priebehu 70-tych rokov minulého storočia. Objasnenie vychádzalo z pragmatického hľadiska funkcie svalov nohy (19). Ide o vplyvy tzv. vnútorné a vonkajšie, hoci lepšie snáď sa patrilo ich nazvať vplyvy segmentálne a suprasegmentálne (limitované funkčnou poruchou PNS resp. CNS):

- vnútorný („intrinsic“) faktor – ako slabosť alebo paralýza interosseálnych svalov nohy, alebo dysfunkcia flexorov a extenzorov nohy s kontraktúrou plantárnej aponeurózy
- vonkajší („extrinsic“) faktor – ako porucha suprasegmentálnej inervácie (prejav svalovej dystonie v dôsledku poruchy pyramídovej a extrapyramídovej dráhy) alebo dôsledok skeletovej abnormality.

Posledné dve desaťročia a pokroky v genetike a molekulárnej biológii a biochémii načrtli nové perspektívy skúmania genetickej podstaty

Tabuľka 2. Fenotypová variabilita niektorých hereditárných – familiárných ochorení

Klin. jednotka	klasický fenotyp	tzv. syndrómy plus
HMSN- I-V typ	polyneuropatia motorická a senzitivná kyfokolióza pes cavus	+ spastická paraparéza + optická atrofia + tapetoretin. degenerácia + hluchota + mentálna retardácia + dysmorfie (Noonanov sy) + kardiálne poruchy
HSAN-I typ	polyneuropatia senzitivná mokvajúce a ulcerujúce defekty na šľapkách pes cavus	+ anhidróza
FA –typ včasný typ neský X chrom.	spinálna ataxia (zadnopolvrzcová) kyfokolióza kardiálne poruchy pes cavus	+ zachované reflexy + posterolaterálny spin. sy + myoklonus + hypogonadizmus + tapetoretin. degenerácia + optická atrofia + hluchota + extrapyramídové sy
HSP	spastická paraparéza (s hyperreflexiou a extenznou plantárnou odpoveďou) pes cavus	+ peroneálna amyotrofia + mentálna retard., demencia + tapetoretinálna degenerácia + optická atrofia + senzitivná polyneuropatia + ataxia (posterolaterálny sy) + extrapyramídové sy
HPH-TRD+	senzoricko – neurálna hluchota epizodické vertigo	+ tapeto-retinálna degenerácia + optická atrofia + polyneuropatia + skeletové abnormality + epilepsia + extrapyramídové poruchy + somatické ochorenia + mentálna retard., demencia
PSSA Ryukyana	spinálna pletencová amyotrofia (progredujúca od narodenia) pes cavus	

a objasnenia genetickej identity hereditárných a familiárných ochorení NS, teda i u skupiny klinických jednotiek a ochorení, v rámci ktorých sa vyskytuje i pes cavus (tabuľka 1).

Ako teda interpretovať nespornú genetickú heterogenitu?

Skutočne fenomén pes cavus prináša u uvedených klinických jednotiek veľmi široký diapazón chromozomálnych lokusov, na ktorých sa realizuje genetická abnormalita prostredníctvom určitých mutácií: duplikácie, delécie alebo dokonca bodové mutácie nukleotidových tripletov. Výsledkom týchto mutačných zmien je postihnutie určitého myelínového proteínového génu, zodpovedného za priebeh tvorby a rastu myelínovej špirály (PMP 22, MPZ, Cx-32 atď.) a prítomnosti hypomyelinizácie alebo tvorby menejcenného myelínu u HMSN.

U FA tvorba Frataxinu prostredníctvom ovplyvnenia počtu tripletových kombinácií GAA duplikáciou alebo bodovou mutáciou mitochondriálnej DNA alebo defektom intergenomickej komunikácie vedie ku akumulácii kovov v mitochondriách (1,6,11,14). Niekedy naopak lokalizácia génovej abnormality na

tom istom lókuze môže byť príčinou nemožnosti oddiferencovania dvoch geneticky podmienených klinických jednotiek (napr. lókus pre proteolipidický proteín u HSP a Pelizaeus – Merzbacherovej choroby) (15, 17). Je teda jasné, že stanovenie chromozomálneho lokusu a génovej abnormality je významným diagnostickým prvkom v potvrdení klinickej diagnózy, avšak treba hneď a súčasne konštatovať, že stanovenie genetickej abnormality nemalo by byť príčinou odlišovania napr. typov HMSN z fenotypického a genetického molekulárne biologického hľadiska.

A ako využívať variabilitu fenotypov klinických jednotiek?

V prvom rade je potrebné poznať klasický klinický obraz, t.j. fenotyp určitého ochorenia a v druhom rade tzv. plus syndrómy ako preukázateľné zoskupenia klinických symptómov a prejavov a vedieť zaradiť i prítomnosť tzv. asociovaných príznakov ako sú pes cavus a skeletové abnormality, extrapyramídové poruchy, epilepsia, demencia, senzorické poruchy a pod. (6, 16) (tabuľka 2).

Diagnostický význam nie všetkých tzv. asociovaných symptómov má rovnakú váhu.

Stačí porovnať závažnosť napr. epilepsie alebo demencie. Ide o syndrómy, vyskytujúce sa s pomerne vysokou frekvenciou v bežnej populácii ako samostatné klinické jednotky alebo multietiologické sekundárne syndrómy a ich zaradenie ako významných asociovaných fenoménov u neurodegeneratívnych ochorení je prinajmenšom sporné a častejšie ide o kombináciu viacerých príčinných faktorov.

Pes cavus podľa prezentovaných faktov klinických klasických – dominantných príznakov sa nachádza v základnom fenotype niektorých klinických jednotiek ako súčasť fenotypu neurodegeneratívneho ochorenia (HMSN, HSAN, HSP, FA, PSSA – Ryukyan) a u niektorých jednotiek v rámci prítomnosti tzv. asociovaného príznaku v prítomnosti iných symptómov ako tzv. syndróm plus (HPH-TRD+).

Zaujímavý je pohľad Feinsteina (1967), ktorý analyzuje z klinicko-epidemiologického hľadiska práve výskyt pes cavus u HMSN a koreluje výskyt prítomnosti tohto fenoménu ako primárny symptóm u pomaly progredujúcej HMSN, ako tzv. sekundárny symptóm v rámci iných ochorení a porovnáva frekvenciu a využiteľnosť tohto symptómu u zdravých, bezproblémových osôb alebo ich rodín a u sporadických prípadov. Prichádza k záveru, že prítomnosť tohto symptómu a jeho využiteľnosť v diagnostickom procese z pohľadu epidemiológov, praktických lekárov a nakoniec i patológov v ambulantnej praxi je podstatne nižšia ako u lekárov v nemocniciach počas hospitalizácie pacientov. Tento fakt je daný multidisciplinárnym diagnostickým prístupom klinických pracovníkov, patológov, biochemikov, genetikov alebo molekulárných biológov (3, 7).

Týmto kazuistikami a analýzou výskytu fenoménu pes cavus ako klasického alebo asociovaného symptómu podľa génových a fenotypových aspektov sme chceli ukázať, že:

1. existuje značná genetická heterogenita niektorých neurodegeneratívnych ochorení

podľa genetických charakteristík (lókusov chromozómov, prítomnosti určitých génových abnormalít) a tieto genetické ukazovatele by nemali byť nadradené klinickým a elektrofyziológickým charakteristikám niektorých heredodegeneratívnych a familiárných ochorení NS

2. existuje veľká fenotypová variabilita zoskupení symptómov v klinických jednotkách, ktorá iba potvrdzuje fakt že v podstate ten istý alebo aspoň veľmi podobný klinický obraz môže vzniknúť rôznymi spôsobmi

zásahu do genetického materiálu (duplikáciou, deléciou, bodovými mutáciami atď.).

Z pohľadu autorov sme sa snažili poukázať na fakt genetickej heterogenity a veľkej klinickej fenotypovej variability. Pri vcelku malých (nepatrných alebo vôbec žiadnych) možnostiach genetickej a molekulárnej biologickej diagnostiky sa treba orientovať v rozpoznaní i takého často nenápadného príznaku ako je pes cavus a využiť jeho prítomnosť v prospech správnosti diagnostického postupu.

Literatúra

1. Adamec J, Rusnak F, Owen W, et al. Iron-dependent self assembly of recombinant yeast frataxin: implications for Friedreich's ataxia. *Am J Hum Genet.* 2000; 67: 549–562.
2. Bejaoui K, McKenna-Yasek D, Hosler A, et al.: Confirmation of linkage of type I hereditary sensory neuropathy to human chromosome 9q22. *Neurology.* 1999; 52: 510–515.
3. Bobowick AR, Brody J. Epidemiology of neurodegenerative system disorders. In Vinken JP, Bruyn GW (Edit.) (1975): *Handbook of Clinical Neurology*, Vol.21 (Part I), North Holland Publ.Comp., Amsterdam, 1975: 3–42.
4. De Jonghe P, Timmerman V, Fitzpatrick D, et al. Mutilating neuropathy ulceration in a chromosome 3q13-q22 linked Charcot-Marie-Tooth disease type 2B family. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 1997; 62: 570–573.
5. Donaghy M, Hakin RN, Bamford JM, et al. Hereditary sensory neuropathy with neurotrophic keratitis. Description of an autosomal recessive disorder with a selective reduction of small unmyelinated nerve fibres and discussion of the classification of the hereditary sensory neuropathies. *Brain.* 1987; 110: 563–583.
6. Donaghy M. (Edit.): *Brain's Diseases of the Nervous System*, Eleventh Edit., Oxford University Press, 2001; 1244.
7. Feinstein AR. *Clinical Judgement.*, Baltimore, Williams-Wilkins Co, 1967.
8. Harding AE, Thomas PK. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy type I and II. *Brain.* 1980; 103: 259–280.
9. Hazan J, Fonknechten N, Manel DO, et al. Spastin, a new AAA protein is altered in the most frequent form of autosomal dominant paraplegia. *Nature Genet.* 1999; 23: 296–303.
10. Horoupain DS. Hereditary sensory neuropathy with deafness: a familial multisystemic atrophy. *Neurology.* 1989; 39: 244–248.
11. Chamberlain L, Shaw J, Rowland A, et al. Mapping of mutation causing Friedreich's ataxia to human chromosome 9. *Nature.* 1988; 334: 248–250.
12. Kondo K, Tsubaki T, Sakamoto F. The Ryukyan muscular atrophy. An obscure heritable neuromuscular disease found in the islands of southern Japan *J Neurol Sci.* 1970; 11: 359–382.
13. McDermott CJ, White K, Buthley K, et al. Hereditary spastic paraparesis: a review of new developments. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2000; 69: 150–160.
14. Montermini L, Richter A, Morgan K, et al. Phenotypic variability in Friedreich's ataxia: role of the associated GAA triplet repeat expansion. *Ann Neurol.* 1997; 41: 675–682.
15. Reid E, Dearlove AM, Whiteford ML. Autosomal dominant spastic paraplegia. Refined SPG 8 locus and additional genetic heterogeneity. *Neurology.* 1999; 53: 1844–1849.
16. Rimoin DL, Connor IJM, Pyeritz ER. (Edit.). *Emery and Rimoin's Principle and Practice of Medical Genetics*. Third Edit., Churchill-Living-Stone, New York, 1996: 2937.
17. Saugier-Verber P, Munnich A, Bonneau D, et al. X linked spastic paraplegia and Pelizaeus-Merzbacher disease are allelic disorders at the proteolipid protein locus. *Nature Genet.* 1994; 6: 257–262.
18. Timmerman V, Nelis E, Van Hull W, et al. The peripheral myelin protein gene PMP 22 is contained within the Charcot-Marie-Tooth disease type 1A duplication. *Natur Genet.* 1992; 1: 171–175.
19. Tyrer JH. Familial pes cavus. In Vinken JP, Bruyn GW, De Jongh JMB. (Edit.): *Handbook of Neurology*, Vol.22, System Disorders and Atrophies Part II, North Holland Publ. Comp., Amsterdam, 1975: 263–270.
20. Warner CE, Mancias P, Butler F, et al.: Mutation in the early growth response 2 gene are associated with hereditary myelinopathies. *Nature Genet.* 1998; 18: 382–384.