

DOENÇA DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

ESTUDO DA BIÓPSIA DO NERVO SURAL EM 41 PACIENTES

MARCOS R.G. FREITAS*, OSVALDO J.M. NASCIMENTO**,
LEILA CHIMELLI***, GABRIEL R. DE FREITAS****

RESUMO - São apresentados os resultados da biópsia do nervo sural à microscopia óptica e eletrônica (ME) em 41 pacientes com doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT) Por estudos de neurocondução prévios nove eram do tipo I e 32 do tipo II. No tipo I, todos tinham grande diminuição do número de fibras, sendo os histogramas do tipo unimodal. Encontramos imagens de desmielinização, remielinização, formação de bulbos de cebola e de regeneração. Um paciente apresentava espessamento da bainha de mielina (atrofia axonal). No tipo II, sete pacientes não apresentavam anomalia à microscopia, com histograma normal. Nos restantes havia discreta a intensa perda de fibras mielínicas principalmente as de grande calibre. Em cinco enfermos havia aumento do número de fibras devido a grande regeneração. Alguns pacientes do tipo II apresentavam à ME imagens de pequenos bulbos de cebola e em um havia também atrofia axonal. Comparando com os dados clínicos e de neurocondução motora, no tipo I não encontramos relação entre a intensidade do quadro clínico e a perda de fibras mielínicas porém houve paralelismo da queda da neurocondução motora e a diminuição do número de fibras. No tipo II não houve relação entre o quadro clínico, a neurocondução e os achados da biópsia nervosa.

PALAVRAS-CHAVE: doença de Charcot-Marie-Tooth, biópsia do nervo sural, anatomopatologia.

Charcot-Marie-Tooth disease: sural nerve biopsy findings in 41 patients

SUMMARY - We studied the pathological findings of sural nerve biopsy in 41 patients with Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease. They were previously classified by the median motor conduction velocity (MCV) in two types. Type I (demyelinating) with 9 patients and type II (axonal) with 32 cases. In type I we found loss of myelinated fibers (unimodal histogram), demyelinated and remyelinated axons with numerous onion bulb formations. In one case there was thickness of myelin with thin axons (axonal atrophy). In type II there were seven patients with normal sural nerve biopsy. In 25 cases there were mild to severe loss of myelinated fibers. In 5 patients the number of myelinated fibers was increased due to the great regeneration of the axons. The electron microscopic studies in type II showed in a few cases small onion bulbs and in one case axonal atrophy. In type I there was no correlation between clinical severity and the loss of myelinated fibers, but there was relationship between the low MCV and the intensity of myelinated fibers. In type II we did not found any correlation between clinical course, MCV and pathological findings.

KEY WORDS: Charcot-Marie-Tooth disease, sural nerve biopsy, pathological findings.

Graças aos estudos histopatológicos do nervo periférico na doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT), esta entidade vem sendo mais conhecida e seus vários subtipos melhor esclarecidos. Algumas contribuições na fisiopatogenia desta afecção têm sido dadas pela verificação, na microscopia óptica

Setor de Doenças Neuromusculares do Serviço de Neurologia do Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense: * Professor Titular e Chefe do Serviço; ** Professor Titular; *** Professor Livre-Docente de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; **** Monitor. Aceite: 31-março-1995.

e eletrônica, de fragmento de nervo periférico. Na doença de CMT I, encontramos as seguintes alterações do nervo periférico, vistas à microscopia convencional e eletrônica: 1) aumento do espaço endoneural; 2) grande perda de fibras de grande calibre; 3) curva unimodal no histograma com maior número de fibras de 4 a 6µ; 4) presença de imagens em bulbo de cebola; 5) desmielinização segmentar, em 30% das fibras, e remielinização, em 85% delas, no exame de microdissecção^{1,4,7,8,13,20}. No tipo II da doença de CMT não há tantas descrições como no tipo I. Isto, talvez, se deva à monotonia dos achados patológicos ou então à menor frequência deste tipo em várias estatísticas. Há diminuição do número de fibras mielínicas, principalmente as de grande calibre, com poucas fibras em degeneração axonal, sem a presença de desmielinização ou remielinização. Seria o quadro histológico de uma degeneração axonal crônica^{3,4,6,13,19}. Por vezes pode-se encontrar ocasionais e pequenos bulbos de cebola². Em alguns casos a biópsia pode ser normal^{3,4,13,19}.

Relatamos os achados anatomopatológicos do nervo sural de 41 pacientes com doença de CMT dos 45 por nós estudados.

MATERIAL E MÉTODOS

O nervo sural de 41 pacientes com doença de CMT foi biopsiado em sala cirúrgica no Hospital Universitário Antonio Pedro¹⁰. Os quatro pacientes restantes não foram biopsiados, pois eram crianças e já tinham um ou mais elementos na família com a mesma afecção que haviam realizado este exame. A todos os enfermos foi solicitada permissão para realizar a biópsia, mostrando-lhes previamente a importância do exame para o diagnóstico e estudo da afecção. Após anestesia local, realizou-se uma incisão longitudinal de cerca de 6 cm na pele entre o maléolo externo e o tendão de Aquiles, e retirou-se um segmento de 4 a 5 cm do nervo com o mínimo de trauma. O nervo foi seccionado a 3 ou 4mm de cada extremidade com uma lâmina nova, sendo estes dois fragmentos fixados em formol a 10%. Fixou-se a parte central do segmento biopsiado (+/- 4 cm) em glutaraldeído a 3% em tampão cacodilato (pH 7,4) em temperatura de 4°C por quatro horas no mínimo².

No material fixado em glutaraldeído, fizeram-se quatro a cinco cortes transversais de menos de 1 mm de espessura, os quais eram lavados em tampão cacodilato, pós-fixados em tetróxido de ósmio, desidratados em álcool, clarificados com óxido de propileno puro, posteriormente misturados com araldite e, finalmente, deixados em araldite puro até o dia seguinte, quando então eram incluídos em araldite recém-preparado. Cortes semi-finos transversais e longitudinais (1 µm) para microscopia óptica foram corados com azul de toluidina e, quando necessário, algumas áreas eram selecionadas para cortes ultrafinos para exame ao microscópio eletrônico. Estes cortes foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinados em microscópio eletrônico Zeiss OM 109. O restante do nervo foi dividido em três ou quatro fascículos para permitir maior penetração do ósmio, sendo processados de maneira semelhante aos cortes transversais descritos acima, exceto a resina que foi preparada sem o acelerador (DMP 30). As fibras foram separadas usando-se agulhas superfinais sob uma lupa e estendidas na lâmina sobre uma gota de araldite com acelerador seguida de lâmina. A lâmina era colocada na estufa durante a noite, para permitir a polimerização da resina. Os fascículos não dissecados eram estocados em freezer. A microdissecção de fibras só foi realizada em casos selecionados, quando era importante para o diagnóstico, já que a técnica demanda muito tempo para a sua realização. Determinou-se a densidade e o diâmetro das fibras mielínicas para histograma em todos os casos. Quatro indivíduos sãos e com neurocondução normal aceitaram ser biopsiados como controles, realizando-se também histograma do mesmo nervo sural. A contagem de fibras mielínicas nestas quatro pessoas foi de 5557/mm² (60 anos de idade), 6619/mm² (56 anos), 6650/mm² (52 anos) e 9783/mm² (18 anos). A média foi 7,152/mm².

RESULTADOS

As lâminas coradas pelo Hematoxilina-Eosina (HE) e pelo Tricômico de Gomory (TG) não trouxeram esclarecimentos maiores, pois não são colorações apropriadas para visualização das fibras nervosas. O tecido conjuntivo e os vasos vistos nestas preparações não mostraram alterações. Veremos em separado os achados em cortes semi-finos corados pelo azul de toluidina, na microscopia eletrônica (ME) e na microdissecção de fibras.

1. Cortes Semi-Finos

De acordo com os dados da neurocondução, nossos casos foram divididos em 11 pacientes do tipo I e 34 do tipo II. Foi feita biópsia do sural em nove enfermos do tipo I e em 32 do tipo II. Estudaremos em separado as duas formas da doença.

Tabela 1. Doença de CMT I: número de fibras mielínicas/mm².

Caso	Nº de fibras mielínicas/mm ²	Tipo de pico
1	1216	Unimodal
2	1887	Unimodal
3	1278	Unimodal
4	1670	Unimodal
7	5109	Unimodal
8	4082	Unimodal
9	3299	Unimodal
10	557	Unimodal
11	2835	Unimodal

Tabela 2. Doença de CMT II: número de fibras mielínicas/mm².

Caso	Nº de fibras mielínicas/mm ²	Tipo de pico
12	4287	Unimodal
13	4763	Unimodal
14	5928	Unimodal
15	7619	Unimodal
17	9196	Unimodal
19	7577	Unimodal
20	2278	Unimodal
21	5289	Bimodal
22	2918	Unimodal
23	2021	Unimodal
25	5196	Unimodal
29	4918	Unimodal
31	8320	Unimodal
32	4536	Unimodal
33	6268	Unimodal
34	6558	Bimodal
35	1134	Unimodal
36	4258	Unimodal
37	5866	Unimodal
38	5113	Bimodal
39	5978	Bimodal
40	3928	Unimodal
42	1496	Unimodal
44	9836	Unimodal
45	3670	Unimodal

A. Doença de CMT I. Os nove casos biopsiados revelaram queda do número de fibras de 557 a 5.109/mm² (Tabela 1). A perda foi mais intensa nas fibras de grande calibre, sendo que o caso nº 11 não mostrava a presença destas fibras. O histograma foi do tipo unimodal em todos, estando o pico de fibras entre 2 e 5 µ de diâmetro. Uma enferma teve um tênue segundo pico (Caso 3) entre as fibras de 7 a 8 µ (Gráfico 1B). As estruturas em bulbo de cebola formadas por prolongamentos do citoplasma de células de Schwann foram vistas em todos os pacientes (Fig. 1A e B). Em sete eram intensas, englobando quase que a totalidade das fibras (Casos 2, 4, 7, 10 e 11). No Caso 9 havia várias fibras com espessamento da bainha de mielina em relação ao axônio. Em três (Casos 3, 4 e 11), havia imagens de regeneração, com três ou mais fibras de pequeno calibre, com bainha de mielina fina, bem próximas, cercadas ou não de prolongamentos de célula de Schwann (Fig. 1B).

B. Doença de CMT II. Foram 32 os casos biopsiados nesta forma da doença. Sete deles eram normais com o número de fibras mielínicas/mm² dentro dos padrões da normalidade. Nos outros 25 casos restantes encontramos as seguintes alterações: 1) Redução do número de fibras - a perda de fibras mielínicas não foi tão intensa como no tipo I (Tabela 2). Ocorreu, principalmente nas de grande calibre (Fig 1C). Alguns casos também tiveram perda de fibras de pequeno calibre (Casos 20, 34 e 35). O histograma foi do tipo unimodal em 21 pacientes (Gráfico 1C) e bimodal em quatro (Gráfico 1D). Apesar de haver perda de fibras mielínicas em todos os casos, em alguns pacientes a contagem total tinha número de fibras normal ou acima do normal (Casos 15, 17, 19, 31 e 44). Isto se deveu a regeneração com grande aumento no número de fibras de pequeno calibre, principalmente de 2 a 4 µ de diâmetro (Fig 1D). 2) Regeneração - muitos casos tinham imagens em regeneração ("sprouting") com presença de três ou mais

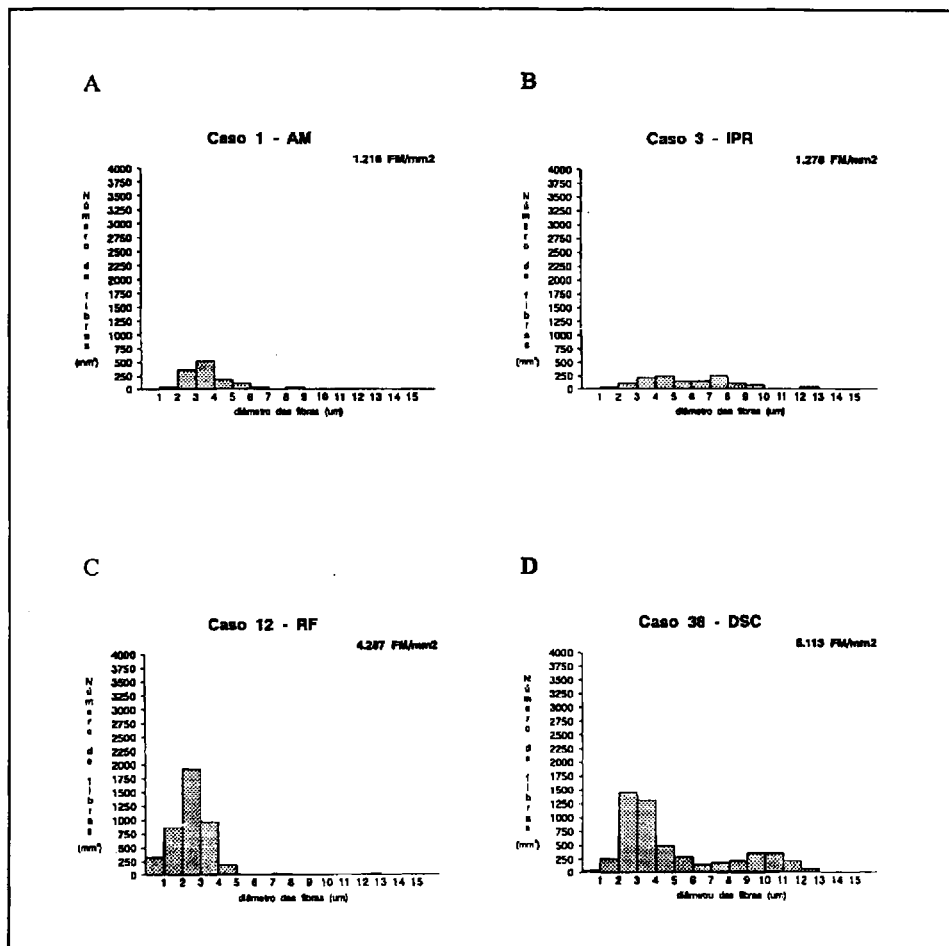


Gráfico 1. Histograma: fibras mielínicas por mm² (FM/mm²).

fibras mielínicas justapostas. 3) Bulbo de cebola - alguns pacientes nesta forma da doença exibiam esboço de bulbo de cebola (Casos 14,17,20,23,35 e 42), o que seria confirmado à microscopia eletrônica. 4) Bainha de mielina fina - foi vista em pequena quantidade, somente em três pacientes (Casos 20,25 e 38).

2. Microscopia eletrônica (ME)

Nos pacientes com doença de CMT I, a ME do nervo confirmou a presença de inúmeros bulbos de cebola com várias lamelas de mielina e a normalidade das fibras amielínicas (Fig 2A). Nos pacientes com doença de CMT II, verificou-se perda de fibras mielínicas de grande calibre. No Caso 45 havia, também, perda de fibras amielínicas, o que não foi visto nos outros (Fig 2B), nos quais estas fibras estavam normais. Os bulbos de cebola nos nervos dos pacientes do tipo II foram melhor vistos à ME. Eram constituídos de poucas lamelas de citoplasma de célula de Schwann, tendo no centro fibra mielinizada (Fig 3A). No Caso 45 verificaram-se bulbos de cebola com fibras desmielinizadas no centro (Fig 3B). Em dois pacientes (Caso 8 e 44) viam-se, em algumas fibras, redução do calibre do axônio em relação à espessura da bainha de mielina (Fig 4A). Fibras em regeneração foram vistas em muitos casos (Fig 4B).

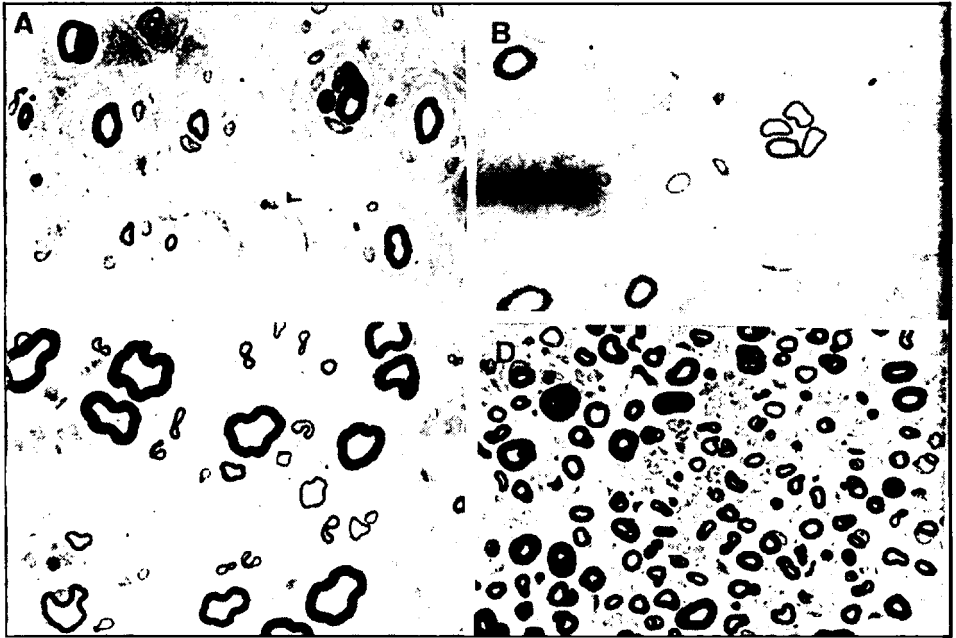


Fig 1. Secção transversa do nervo sural. A e B - Caso 2 (MMB) CMT I. A - Várias figuras em bulbo de cebola com fibras mielínicas em seu interior. B - Imagem de regeneração com quatro fibras circundadas por estrutura em bulbo de cebola. C - Caso 38 (DSC) CMT II. Moderada redução de densidade de fibras mielínicas de grande calibre. D - Caso 44 (WPS) CMT II. Ausência de fibras mielínicas de grande calibre e aumento das de pequeno calibre. Azul de Toluidina neg. X 1000.

3. Microdissecção de fibras (“teasing”)

Este método de exame só foi realizado em alguns casos do tipo II. Nos pacientes com doença de CMT I que apresentavam quadro típico com VCN motora bem reduzida e inúmeras imagens de bulbo de cebola não foi necessária a realização deste exame. Nos casos do tipo II, encontrou-se, em alguns, diminuição do número de fibras, em outros, algumas fibras em degeneração axonal e, em poucos, imagens de desmielinização segmentar e paranodal.

COMENTÁRIOS

1. Doença de CMT I. Os nove pacientes do tipo I biopsiados apresentaram alterações exatamente iguais às descritas na literatura^{1,8,12,13,15,20}. Havia grande perda de fibras mielínicas de grande calibre (uma de nossas pacientes tinha 557 fibras mielínicas por mm²). O histograma em todos nossos casos foi do tipo unimodal, estando o pico entre fibras de 2 a 5µ de diâmetro. Nos pacientes de Behse e Buchthal¹, o pico encontrava-se entre 4 a 6µ e, nos de Gabreels-Festen e col¹², entre 2 a 3µ. As fibras amielínicas vistas à ME estavam normais, ao contrário da pequena perda de fibras amielínicas vistas por Behse e Buchthal¹ em seus dez pacientes. Em três casos encontramos imagens de fibras em regeneração (“sprouting”), também citadas por Low e col¹⁵. Bulbos de cebola foram encontrados em todos os casos, sendo que sete englobavam quase todas as fibras. Apesar de serem referidos^{1,9,12,13,15}, Van Werden e col²¹, só os viram em uma de suas cinco biópsias. Em nossos pacientes, os bulbos eram formados por múltiplas camadas de citoplasma de células de Schwann, sendo melhor vistos à ME. Alguns bulbos não apresentavam fibras nervosas no seu interior e outros continham duas ou mais fibras.

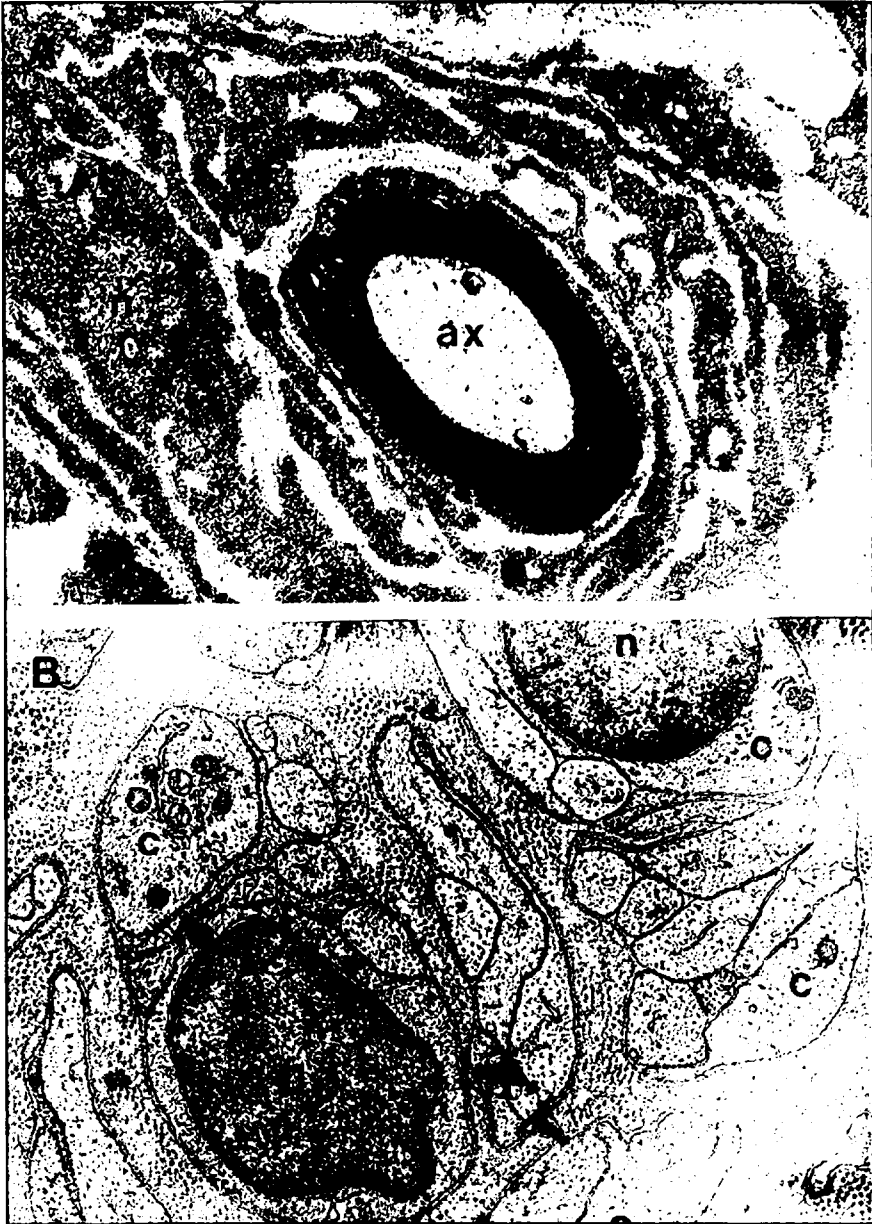


Fig 2. Secção transversa do nervo sural. Eletromicrografia. A - Caso 1 (AM) CMT I. Imagem de bulbo de cebola constituída de axônio mielinizado (ax) circundado por vários prolongamentos de célula de Schwann (n: núcleo) ME x 3000. B - Caso 34 (ROB) CMT II. Presença de duas células de Schwann sem axônio (n: núcleo da célula de Schwann, c: citoplasma de célula de Schwann). ME x 7000.

No Caso 9, ao contrário do habitual, encontramos bainha de mielina espessa em relação ao calibre do axônio. Este fato foi visto por Nukada e col¹⁷ e por Nukada e Dyck¹⁶. Acharam que esta discrepância axono-mielínica traduziria atrofia axonal e que, nesta forma chamada “desmielinizante” da doença de CMT, o defeito primário estaria no axônio e não na mielina. Em nenhum de nossos

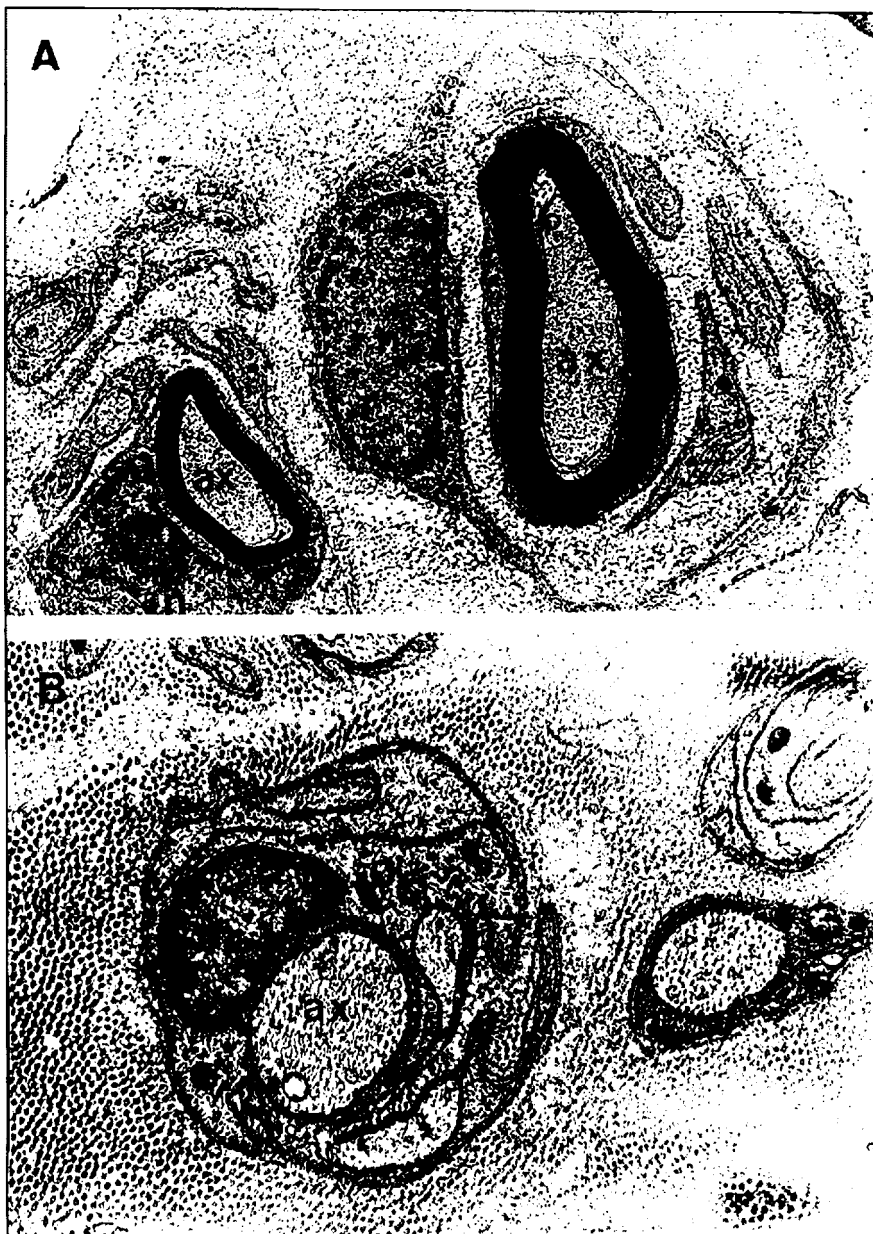


Fig 3. Secção transversa do nervo sural. Eletromicrografia. A - Caso 17 (CMS) CMT II. Dois axônios mielinizados (ax) circundados por poucos prolongamentos de célula de Schwann. ME x 4400. B - Caso 45 (ROB) CMT II. Axônio desmielinizado (Ax) com proliferação concêntrica de célula de Schwann. ME x 7000.

casos encontramos, à ME, a presença de desmielinização ativa (macrófago fagocitando mielina) referida por Vital e col²² em três crianças com doença de CMT I. Não realizamos biópsia do nervo em crianças com esta forma. Todos os nossos casos biopsiados do tipo I eram adultos. Em nossos três pacientes de provável herança autossômica recessiva e nos quatro casos esporádicos, a perda de



Fig 4. Secção transversa do nervo sural. Eletromicrografia. A - Caso 8 (DIDF) CMT I. Dois axônios atróficos (ax) com espessamento da camada de mielina. Em volta verifica-se presença de axônios amielínicos. ME x 4000. B - Caso 17 (CBS) CMT II. Regeneração de fibras com dois axônios mielinizados (ax) circundados por uma só célula de Schwann. ME x 4400.

fibras mielínicas foi menor do que nos casos de herança autossômica dominante; o inverso do encontrado por Harding e Thomas¹⁴, Gabreels-Festen e col¹² e Ouriver e col¹⁸ que citam maior perda de fibras nestes casos.

2. Doença de CMT II. Foram 32 os casos biopsiados nesta forma. Sete biópsias foram consideradas normais, com histograma do tipo bimodal. É citada a normalidade do nervo sural em alguns casos deste tipo da doença de CMT^{3,4,13,19}. Em 25 biópsias, encontramos perda (de discreta a intensa) de fibras mielínicas, porém não tão pronunciada como no tipo I. Foi maior a perda de fibras de grande calibre^{4,13,19,23}. Em um paciente havia também, à ME, perda de fibras amielínicas. O histograma foi do tipo unimodal em 20 casos e bimodal em cinco. Em muitas biópsias havia intensa regeneração de fibras, a qual se fazia, sobretudo, à custa das fibras de pequeno calibre. Em alguns casos o número total de fibras mielínicas foi normal ou mesmo acima do normal, porém o pico era unimodal. Em três oportunidades, verificamos ocasionais fibras com bainha de mielina de fina espessura. Em cinco pacientes encontramos, à microscopia óptica, esboço de formação de bulbos de cebola isolados; o que foi confirmado à ME. Eram pequenos bulbos de cebola com poucas camadas de citoplasma de célula de Schwann. Achamos, como outros autores^{4,12}, que presença de raras imagens de bulbo de cebola nesta forma da doença seria por desmielinização e remielinização secundária à lesão axonal. Como no tipo I, encontramos um caso que, à ME, apresentou desproporção axonomielínica (axônio fino, mielina espessa). Este tipo de imagem traduz atrofia axonal^{4,16,17}. No exame de fibra única, em alguns casos verificamos degeneração axonal e desmielinização segmentar e paranodal, também citadas por Dyck e col⁷, Harding e Thomas¹⁴, Gherardi e col¹³. Comparando-se o número de fibras mielínicas dos casos de herança autossômica dominante com o dos casos recessivos e esporádicos, verificamos que os pacientes com menor número de fibras (Casos 35 e 42) eram casos esporádicos, traduzindo maior gravidade destes^{11,19}.

Comparando os dados eletrofisiológicos estudados no trabalho anterior com achados de biópsia do nervo sural nos pacientes com CMT I verificamos que aqueles casos que têm VCN motora mais baixa são os que têm menor número de fibras no nervo sural (Casos 1,2,3 e 4). Já nos casos em que a VCN não é tão reduzida o número de fibras mielínicas é um pouco maior. Nos casos do tipo II, não houve relação das alterações clínicas e da VCN motora com os resultados da biópsia do nervo sural. Nossos pacientes mais graves foram vistos neste grupo (Casos 23,28,35,38,42,43 e 44). Em quatro deles, a VCN motora do mediano estava normal e em três levemente reduzida. Dos pacientes mais afetados clinicamente, três tinham grande perda de fibras nervosas, em um a perda era leve e em três a biópsia foi normal. Tampouco parece haver relação de neurocondução motora do mediano com a perda de fibras. Houve casos com redução moderada da VCN motora do mediano e biópsia do nervo sural normal (Casos 17,19,24,31,43 e 44) e casos de biópsia com grande perda de fibras nervosas e VCN motora do mediano normal (Casos 32,34 e 40). Existiu, como era de se esperar, relação direta das alterações da neurocondução do sural com o número de fibras deste nervo. Nos casos em que a biópsia do nervo foi normal havia discreta alteração da latência e amplitude do potencial de ação sensitivo (PAS) (Casos 24,26,27,28,30,41 e 43). Não se obteve o potencial de ação do nervo sural em quase nenhum dos pacientes cujas biópsias revelaram grande perda de fibras (todos os casos do tipo I e os Casos 20,22,23,32,40,42,45 do tipo II). Somente o Caso 35 tinha grande perda de fibras mielínicas com presença do PAS do sural, embora com amplitude baixa e latência prolongada.

REFERÊNCIAS

1. Behse F, Buchtal F. Peroneal muscular atrophy and related disorders: II. Histological findings in sural nerves. *Brain* 1977, 100:67-85.
2. Chimelli L, Nascimento O, Freitas MRG. Correlação clínico-patológico em 78 biópsias de nervo sural. *Arq Neuropsiquiatr* 1989, 47:413-422.
3. Dan A, Alexianu M, Vasilescu C, Manole E. Some morphometrical data in neuronal type of hereditary sensorimotor neuropathy. *J Neurol Sci* 1990, 98: (Suppl): 404.
4. Dyck PJ. Histologic measurements and fine structure of biopsied sural nerve: normal and in peroneal muscular atrophy, hypertrophic neuropathy and congenital sensory neuropathy. *Mayo Clin Proc* 1966, 41:742-774.
5. Dyck PJ. Inherited neuronal degeneration and atrophy affecting peripheral motor, sensory and autonomic neurons. In Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge RWB (eds). *Peripheral neuropathy* Ed 2. Philadelphia: Saunders, 1984, p 1600-1655.

6. Dyck PJ, Chance P, Lebo R, Carney JR. Hereditary motor and sensory neuropathy. In Dyck PJ, Thomas PK. *Peripheral neuropathy* Ed 3. Philadelphia: Saunders, 1993, p 1094-1136.
7. Dyck PJ, Gutrecht JA, Bastron JA, Karnes WE, Dale AJD. Histologic and teased fiber measurements of sural nerve in disorders of lower motor and primary sensory neurons. *Mayo Clin Proc* 1968, 43:81-123.
8. Dyck PJ, Lambert EH. Lower motor and primary sensory neurons diseases with peroneal muscular atrophy: II. *Arch Neurol* 1968, 18:619-625.
9. Dyck PJ, Lambert EH, Sanders K, O'Brien PC. Severe hypomyelination and marked abnormality of conduction in Dejerine-Sottas hypertrophic neuropathy: myelin thickness and compound action potential of sural nerve in vitro. *Mayo Clin Proc* 1971, 46:432-436.
10. Freitas MRG, Nascimento OJM, Freitas GR. Doenças de Charcot-Marie-Tooth: estudo clínico de 45 pacientes. *Arq Neuropsiquiatr* 1995, 53: 545-551.
11. Gabreels-Festen AAWM, Joosten EMG, Gabreels FJM, Jennekens FGI, Gooskens R. Infantile motor and sensory neuropathy of neuronal type. *J Neurol Sci* 1990, 98 (Suppl): 365-366.
12. Gabreels-Festen AAWN, Joosten EMG, Gabreels FJM, Jennekens FGI, Janssen-Van Kempen TW. Early morphologic features in dominantly inherited demyelinating motor and sensory neuropathy. *J Neurol Sci* 1992, 107:145-154.
13. Gherardi R, Bouche P, Escourrolle R, Hauw JJ. Peroneal muscular atrophy: 2. Nerve biopsy studies. *J Neurol Sci* 1983, 61:401-416.
14. Harding AE, Thomas PK. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. *Brain* 1980, 103:259-280.
15. Low PA, McLeod JG, Prineas JW. Hypertrophic Charcot-Marie-Tooth disease. Light and electron microscopic studies of the sural nerve. *J Neurol Sci* 1978, 35:93-115.
16. Nukada H, Dyck PJ. Decreased axon caliber and neurofilaments in hereditary motor and sensory neuropathy, type I. *Ann Neurol* 1984, 16:238-241.
17. Nukada H, Dyck PJ, Karnes JL. Thin axons relative to myelin spiral length in hereditary motor and sensory neuropathy type I. *Ann Neurol* 1983, 14:648-655.
18. Ouvrier RA, McLeod JG, Conchin TE. The hypertrophic forms of hereditary motor and sensory neuropathy. *Brain* 1987, 110:121-148.
19. Ouvrier RA, McLeod JG, Pollard JD. The peroneal muscular atrophy syndrome. In *Peripheral neuropathy in children*. New York: Raven Press, 1990 p 63-103.
20. Thomas PK, Calne DB, Stewart G. Hereditary motor and sensory polyneuropathy (peroneal muscular atrophy). *Ann Hum Genet* 1974, 38:111-153).
21. Van Weerden TW, Houthoff HJ, Sie D, Minderhoud JM. Variability in nerve biopsy findings in a kinship with dominantly inherited Charcot-Marie-Tooth disease. *Muscle Nerve* 1982, 5:185-196.
22. Vital A, Vital C, Julien J, Fortan D. Occurrence of active demyelinating lesions in children with hereditary motor and sensory neuropathy type I. *Acta Neuropathol* 1992, 84:433-436.
23. Vogel P, Gabriel M, Goebel HH, Dyck PJ. Hereditary motor sensory neuropathy type II with neurofilament accumulation: new finding or new disorder? *Ann Neurolo* 1985, 17:455-461.