

Dystrofia miotoniczna – nowe spojrzenie na znaną chorobę

Myotonic dystrophy – a new insight into a well-known disease

Anna Łusakowska¹, Anna Sutek-Piątkowska²

¹Katedra i Klinika Neurologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

²Zakład Genetyki, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

Neurologia i Neurochirurgia Polska 2010; 44, 3: 264–276

Streszczenie

Dystrofia miotoniczna (DM) jest najczęstszą dystrofią mięśniową wieku dorosłego, dziedziczną w sposób autosomalny dominujący. Cechą charakterystyczną DM jest zajęcie wielu tkanek i narządów. Obecnie wiadomo, że istnieją co najmniej dwie genetycznie różne postaci dystrofii miotonicznej – typ 1 (DM1), odpowiadający klasycznej postaci opisanej przez Steinerta, oraz typ 2 (DM2), który został wyodrębniony po raz pierwszy przez Rickera. Dystrofia miotoniczna typu 1 jest spowodowana ekspansją trójnukleotydowych powtórzeń CTG w genie kinazy białkowej dystrofii miotonicznej, natomiast mutacja w DM2 polega na zwielokrotnieniu sekwencji CCTG w genie białka palca cynkowego 9. Obie mutacje mają charakter dynamiczny i zlokalizowane są w niekodujących fragmentach genów. Mechanizm molekularny odpowiedzialny za wystąpienie szerokiego spektrum cech klinicznych w DM1 i DM2 związany jest z toksycznym działaniem zmutowanego mRNA. W pracy omówiono cechy kliniczne obu dystrofii miotonicznych oraz podsumowano obecny stan wiedzy na temat patogenetyki tych chorób.

Słowa kluczowe: dystrofia miotoniczna, DM1, DM2, mutacja dynamiczna, RNA, składanie genów.

Wstęp

Historia badań nad dystrofią miotoniczną (DM) rozpoczęła się w 1909 r., gdy Hans Steinert – niemiecki lekarz i naukowiec – przedstawił pierwszy opis tej

Abstract

Myotonic dystrophy (DM), the most common dystrophy in adults, is an autosomal dominant disease characterized by a variety of multisystemic features. Two genetically distinct forms of DM are identified – type 1 (DM1), the classic form first described by Steinert, and type 2 (DM2), identified by Ricker. DM1 is caused by trinucleotide expansion of CTG in the myotonic dystrophy protein kinase gene, whereas in DM2 the expansion of tetranucleotide repeats (CCTG) in the zinc finger protein 9 gene was identified. Both mutations are dynamic and are located in non-coding parts of the genes. Phenotype variability of DM1 and DM2 is caused by a molecular mechanism due to mutated RNA toxicity. This paper reviews the clinical features of both types of myotonic dystrophies and summarizes current views on pathogenesis of myotonic dystrophy.

Key words: myotonic dystrophy, DM1, DM2, dynamic mutation, RNA, splicing.

choroby [1]. Za osiowe objawy DM uznano miotonię, zanik i osłabienie mięśni oraz zaćmę. Od początku zwrócono uwagę na fakt, że objawom mięśniowym może towarzyszyć zajęcie innych narządów, co było powodem nazwania tego schorzenia chorobą wieloukładową.

Adres do korespondencji: dr Anna Łusakowska, Katedra i Klinika Neurologii WUM, ul. Banacha 1a, 02-970 Warszawa, e-mail: anna.lusakowska@wum.edu.pl
Pracę otrzymano: 8.11.2009; przyjęto do druku: 18.03.2010

Obraz kliniczny DM jest bardzo różnorodny, a dolegliwości dotyczyć mogą serca, układu pokarmowego i ośrodkowego układu nerwowego; często występują również zaburzenia hormonalne.

W 1992 r. odkryto na chromosomie 19q13.3 mutację w genie kodującym kinazę białkową DMPK (*dystrophia myotonica protein kinase*) [2,3]. Wykazano, że mutacja polega na zwiększeniu liczby (ekspansji) trójnukleotydowych powtórzeń CTG (CTG – trójnukleotyd zawierający zasady: cytozynę, tyminę i guaninę) i przypisano jej patogenną rolę w DM. Wkrótce potem Ricker opublikował pracę, w której wysunął hipotezę o heterogenności genetycznej DM. Opisał grupę chorych bez nieprawidłowości w genie DMPK, u których w obrazie klinicznym dominował zanik i osłabienie kśobne mięśni kończyn dolnych, w przeciwieństwie do chorych z mutacją w tym genie, u których obserwowano zajęcie przede wszystkim mięśni dystalnych [4]. Początkowo tę nową postać DM określano mianem proksymalnej miopatii miotonicznej (*proximal myotonic myopathy* – PROMM) lub proksymalnej dystrofii miotonicznej (*proximal dystrophia myotonica* – PDM) [5]. Hipoteza Rickera została potwierdzona w badaniach wykazujących sprzężenie PROMM z *locus* na chromosomie 3q21 [6,7]. Następnie ustalono, że mutacja dotyczy genu białka palca cynkowego – *ZNF9* (*zinc finger 9 protein gene*), i polega na ekspansji czteronukleotydowych powtórzeń CCTG [8]. Konsekwencją tych odkryć było wprowadzenie nazwy DM1 dla postaci sprzężonej z genem *DMPK* na chromosomie 19, natomiast nazwa DM2 odnosi się do postaci sprzężonej z genem *ZNF9* na chromosomie 3q21. Fenotyp DM1 odpowiada klasycznej postaci opisanej przez Steinerta, w DM2 w pierwszej kolejności zajęte zostają mięśnie proksymalne kończyn dolnych [9].

Dystrofia miotoniczna jest najczęstszą dystrofią wieku dorosłego. Częstość występowania DM1 szacuje się na 1 : 8000 w populacji zachodnioeuropejskiej i Ameryki Północnej [10]. W zamkniętej kulturowo społeczności pochodzenia francuskiego w Kanadzie, w prowincji Quebec, częstość występowania DM1 szacuje się na ok. 1 : 530 [11]. W Polsce do tej pory nie przeprowadzono badań populacyjnych dotyczących DM. W miarę rozwoju badań molekularnych okazało się, że częstość występowania DM2 jest znaczna, prawdopodobnie zbliżona lub nawet przewyższająca częstość występowania DM1. Przeważa pogląd, że DM2 występuje częściej w rodzinach o niemieckim i polskim pochodzeniu [12,13], ale potwierdzenie tej obserwacji wymaga dalszych badań. Na uwagę zasługuje fakt, że na

obszarach Azji Wschodniej, np. w Japonii, DM2 jest chorobą bardzo rzadką [14]. W obu dystrofiach miotonicznych wykazano istnienie tzw. efektu założyciela [15,16]. Uważa się, że mutacja wywołująca DM2 spotykana w Europie pochodzi od jednego przodka, który pojawił się na tym kontynencie w czasie ruchów migracyjnych z Afryki ok. 4 do 11 tys. lat temu [17].

Dystrofia miotoniczna typu 1 i typu 2 to choroby dziedziczone w sposób autosomalny dominujący, jednak ze względu na dynamiczny charakter mutacji odpowiedzialnych za te schorzenia, ich obraz kliniczny może być odmienny w kolejnych pokoleniach, a nawet wśród rodzeństwa. Obserwuje się zjawisko antycypacji, czyli nasilenia objawów choroby z pokolenia na pokolenie, wyrażające się wcześniejszym wiekiem zachorowania i cięższym przebiegiem choroby. Antycypację obserwuje się przede wszystkim w DM1 i wynika ona ze zwiększenia liczby trójnukleotydowych powtórzeń u potomstwa. Zależność pomiędzy wielkością ekspansji a nasileniem objawów w DM2 nie jest tak wyraźna.

Obraz kliniczny dystrofii miotonicznej typu 1

Klasyfikacja kliniczna

Różnorodny obraz DM1 pozwala na wyodrębnienie czterech postaci tej choroby: wrodzonej dystrofii miotonicznej (*congenital myotonic dystrophy* – CMD), postaci dziecięcej, dorosłych, późnej, a nawet bezobjawowej [18]. Głównym kryterium wyróżniającym jest wiek zachorowania, z czym dość ściśle wiąże się stopień nasilenia objawów klinicznych. Należy jednak zaznaczyć, że pomiędzy poszczególnymi postaciami DM1 istnieje fenotypowe podobieństwo.

Wrodzona DM to najcięższa postać, stanowi ok. 10% wszystkich przypadków DM1. Objawy mogą się pojawić już w okresie prenatalnym w postaci wielowodzia, poszerzonych komór mózgu lub osłabionych ruchów płodu. Dzieci rodzą się wiotkie, z przykurczami, deformacjami kostnymi, mają trudności ze ssaniem i połykaniem; z powodu niewydolności oddechowej wymagają stosowania oddechu wspomaganego. Większość z nich przeżywa okres noworodkowy, ale obserwuje się u nich opóźniony rozwój ruchowy i umysłowy [19]. Charakterystyczne jest to, że wyładowania miotoniczne w badaniu EMG pojawiają się dopiero ok. 1. lub 2. roku życia, a miotonia czynna w badaniu przedmiotowym jeszcze później. Chorzy dożywają 3.–4. dekadę; zgon następuje

z powodu niewydolności oddechowo-kръżeniowej. Największe ryzyko zachorowania na CMD występuje, jeśli mutację przekazuje chora matka. W piśmiennictwie istnieją jedynie pojedyncze doniesienia o przypadkach CMD, w których chorobę przekazywali ojcowie, ale co ciekawe – większość z nich prezentowała łagodny fenotyp lub nie wykazywała objawów klinicznych [20,21]. Postać dziecięca może wystąpić bez względu na płeć rodzica – nosiciela mutacji. Rozwój ruchowy w pierwszym roku życia jest prawidłowy lub nieznacznie opóźniony. Pierwsze objawy pojawiają się w dzieciństwie, często w postaci osłabienia mięśni twarzy i szyi oraz dystalnych mięśni kończyn; miotonia rąk może mieć znaczne nasilenie. Głównym problemem są obniżone zdolności intelektualne powodujące trudności z mówieniem i uczeniem się. Zaburzenia kardiologiczne mogą pojawić się już w 2. dekadzie życia [22]. Postać o początku w wieku dorosłym – najczęstsza forma DM1 – określana też mianem „klasycznej”, charakteryzuje się osłabieniem i zanikiem mięśni dystalnych oraz mięśni twarzy. Miotonia i wczesna zaćma (poniżej 50. roku życia) występują u większości pacjentów. Zaburzenia kardiologiczne, endo-

krynologiczne lub gastrologiczne są również częstymi dolegliwościami. Obserwuje się też objawy zajęcia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Stopień nasilenia objawów pozamięśniowych może być różny i nie koreluje z nasileniem zajęcia mięśni. Średni czas przeżycia jest skrócony w stosunku do populacji i wynosi ok. 60 lat. Ostatnią grupę stanowią chorzy, u których objawy pojawiły się w późnym wieku albo są tak dyskretne, że nie powodują poczucia choroby. Jedynym objawem może być zaćma lub łysienie czołowe, co w populacji osób starszych jest często spotykane, natomiast miotonia i osłabienie mięśni występują w tej grupie pacjentów rzadko.

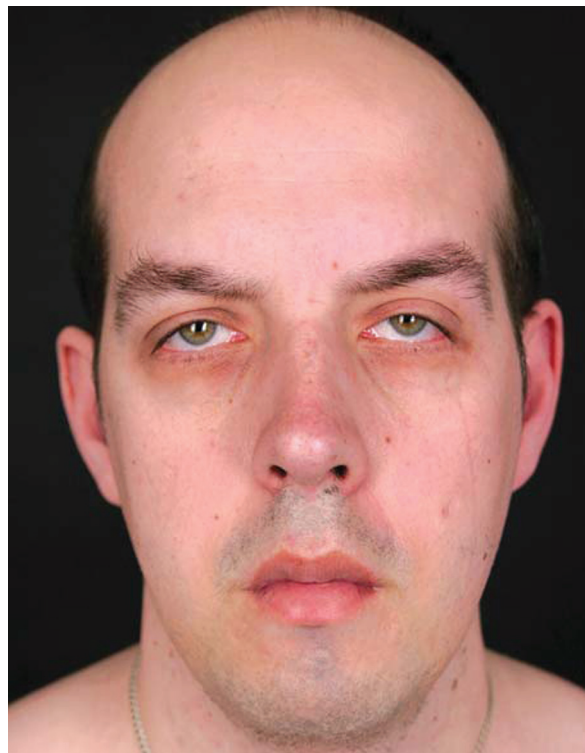
Objawy mięśniowe w dystrofii miotonicznej typu 1

Zanik i osłabienie rozpoczynają się od mięśni odśiebnych kończyn, powodując z czasem opadanie stóp przy chodzeniu czy wypadanie przedmiotów z rąk (ryc. 1.). Następuje zanik mięśni twarzy, szczególnie mięśni skroniowych, opadanie powiek i osłabienie mięśni żwaczy. Zmiany te powodują, że pacjenci z DM1 mają charakterystyczną pociągłą twarz o sennym wyrazie (ryc. 2.).



Ryc. 1. Zanik dystalnych mięśni kończyn dolnych u chorego na dystrofię miotoniczną typu 1

Fig. 1. Distal muscle atrophy of lower limbs in patient with myotonic dystrophy type 1



Ryc. 2. Charakterystyczna twarz chorego na dystrofię miotoniczną typu 1: łysienie czołowe, pociągła twarz, opadanie powiek

Fig. 2. Typical face of patient with myotonic dystrophy type 1: frontal baldness, long face, ptosis

Dokuczliwym objawem jest znaczne osłabienie i zanik mięśni szyi, co prowadzi do opadania głowy. Nie obserwuje się przerostu mięśni. Odruchy głębokie stopniowo ulegają osłabieniu. Miotonia jest jednym z osiowych objawów DM1, ale może być wyrażona w różnym stopniu. Zimno może nasilić objawy miotonii, ale nie jest to regułą. Zwykle obecny jest objaw „warm-up”, czyli ustępowanie sztywności mięśni po kolejnych ruchach. W badaniu EMG u większości chorych rejestruje się ciągi miotoniczne. W niektórych przypadkach ich wykrycie wymaga jednak wnikliwego szukania w mięśniach poza standardowym badaniem, np. w zginaczu łokciowym nadgarstka lub w mięśniach przykręgosłupowych. Brak ciągów miotonicznych nie wyklucza rozpoznania DM1. Zapis z mięśnia może wykazywać charakter miopatyczny, szczególnie w zaawansowanym stadium choroby. Zmiany w nerwach obwodowych mają charakter neuropatii aksonalnej, ale nie są częstym zjawiskiem. Biopsja mięśniowa (wykonywana w celach diagnostycznych u pacjentów z DM1 przed erą badań molekularnych) wykazuje charakterystyczne zmiany morfologiczne w postaci zaniku włókien typu 1 oraz obecności włókien okrężnych i centralnie położonych jąder [23,24].

Objawy pozamięśniowe w dystrofii miotonicznej typu 1

Zaćma występuje u znacznej większości chorych i ma charakter zaćmy tylnej, podtorebkowej; typowo pojawia się przed 50. rokiem życia. Do jej wczesnego wykrycia konieczne jest badanie w lampie szczelinowej. Charakterystycznym elementem fenotypu DM1 u mężczyzn jest wczesne łysienie czołowe, które może pojawić się już na początku 3. dekady życia. Zaburzenia kardiologiczne stanowią istotny problem kliniczny. U dorosłych pacjentów obserwuje się przede wszystkim zaburzenia przewodzenia w postaci bloku przedsionkowo-komorowego różnego stopnia lub bloku jednej z odnóg pęczka Hisa. Najczęstszym rodzajem zaburzeń rytmu jest tachyarytmia nadkomorowa [25]. W badaniach Basseza obejmujących chorych w wieku od 10 do 18 lat obserwowano głównie trzepotanie przedsionków i częstoskurcz komorowy [22]. Kardiomiopatia występuje rzadziej; ma ona na ogół charakter rozstrzeniowy. Postępujące osłabienie mięśni oddechowych prowadzi do niewydolności oddechowej, a w końcu do zgonu. Obserwuje się także bezdechy nocne. Zakażenia górnych dróg oddechowych mogą przyspieszyć wystąpienie niewydolności oddechowej. W obrazie klinicznym DM1 często spotyka się zaburzenia hormonalne. Zmniejszone stężenie testosteronu, zwiększone stężenie

FSH, zanik jąder – dotyczące mężczyzn – prowadzą do zmniejszenia zdolności prokreacyjnych. Ponadto, u osób obojga płci obserwuje się nadczynność lub niedoczynność tarczycy oraz zaburzenia gospodarki węglowodanowej, powodujące nietolerancję glukozy, insulinooporność lub cukrzycę. Jak wiadomo, niedoczynność tarczycy może nasilić lub ujawnić objawy miotonii. Z zajęcie ośrodkowego układu nerwowego przejawia się niesprawnością intelektualną lub obniżonym ilorazem inteligencji (*intelligence quotient* – IQ). Wykazano, że istnieje charakterystyczny dla dystrofii miotonicznej profil zaburzeń poznawczych, związany z upośledzeniem funkcji czołowo-skroniowych. Wiąże się z zaburzeniami przestrzenno-wzrokowymi i zaburzeniami pamięci. Badania neuropsychologiczne wykazały, że pacjenci z DM1 cechują się tzw. osobowością unikającą (*avoidant personality*), która wyraża się trudnościami w nawiązywaniu kontaktów oraz adaptowaniu się do nowych sytuacji, a także niską samooceną [26,27]. Cechą charakterystyczną jest nadmierna senność w ciągu dnia. Może ona nasilać się z powodu obturacyjnych bezdechów nocnych lub być bezpośrednio wynikiem zaburzeń czuwania spowodowanych utratą neuronów serotonergicznym w pniu mózgu [28]. Według niektórych autorów aż u ok. 40% chorych obserwuje się upośledzenie słuchu, które ma charakter odbiorczy [29,30]. Badanie mózgu metodą rezonansu magnetycznego (RM) wykazuje zwykle niezbyt nasilone zmiany hiperintensywne w istocie białej w obrazach T2-zależnych, położone okołokomorowo lub podkorowo, z predylekcją do płata skroniowego i czołowego [31]. Często opisywany jest także uogólniony zanik mózgu [32]. Badanie tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu (*single photon emission computed tomography* – SPECT) uwidacznia zmniejszony przepływ mózgowy w płatach czołowych i skroniowych, co koreluje z charakterem zaburzeń funkcji poznawczych oraz ze specyficznym typem zaburzeń osobowości [26]. Zmiany neuropatologiczne obserwowane w korze mózgowej związane są z obecnością nadmiernie ufosforylowanych białek τ [33]. Jak już wspomniano, w pniu mózgu pacjentów z nadmierną sennością stwierdzono ubytek neuronów serotonergicznym [28].

Zaburzenia układu pokarmowego występują u wielu pacjentów z DM1 i mogą stanowić istotny element obrazu choroby. W przebadanej pod tym kątem grupie 479 chorych z DM1, 68% zgłaszało zaburzenia polykania, a u 48% pacjentów stwierdzano refluks żołądkowo-przelykowy [34]. Trudności w polykaniu zwiększają ryzyko wystąpienia zachłystowego zapalenia płuc. Chorzy mogą zgłaszać dolegliwości przypominające zespół

jelita nadwrażliwego, z uciążliwymi zaparciami, biegunkami lub bólami brzucha. Zaburzenie perystaltyki dróg żółciowych prowadzi do kamicy żółciowej, która może pojawić się już u młodych osób. Zwiększona aktywność γ -glutamylotranspeptydazy (GGTP) jest wyrazem upośledzenia funkcji wątroby. W piśmiennictwie istnieje kilka doniesień o zwiększonym ryzyku wystąpienia u pacjentów z DM1 nowotworu wywodzącego się z mieszka włosowego – *pilomatricoma* [35].

Badania laboratoryjne w dystrofii miotonicznej typu 1

Aktywność kinazy kreatynowej (CPK) jest zwykle nieznacznie zwiększona – nie więcej niż dziesięciokrotnie. Nieprawidłowe wartości glikemii i stężeń hormonów płciowych odzwierciedlają wspomniane wcześniej zaburzenia endokrynologiczne. Często obserwuje się zaburzony profil lipidowy, zwiększoną aktywność GGTP oraz zmniejszone stężenie IgM i IgG.



Ryc. 3. Przerost mięśni łydek u chorego na dystrofię miotoniczną typu 2
Fig. 3. Calf hypertrophy in patient with myotonic dystrophy type 2

Obraz kliniczny dystrofii miotonicznej typu 2

Fenotyp DM2 nie został jeszcze ostatecznie scharakteryzowany, ale na podstawie dotychczasowych obserwacji można powiedzieć, że średni wiek zachorowania jest zdecydowanie późniejszy niż w DM1. W badaniach Rickera, obejmujących 70 pacjentów, średni wiek zachorowania wyniósł 37 lat (zakres: 15–65 lat) [36]. W dużym materiale (234 chorych) przedstawionym przez Daya i wsp. średni wiek zachorowania wyniósł 48 lat [37]. Interesujące są doniesienia o ujawnianiu się choroby w czasie ciąży i czasowym ustąpieniu objawów po porodzie. Dotychczas nie opisano postaci wrodzonej w DM2.

Objawy mięśniowe w dystrofii miotonicznej typu 2

Oslabienie i zanik mięśni rozpoczynają się od mięśni proksymalnych kończyn dolnych, przede wszystkim zginaczy stawu biodrowego. Trudności ze wstaniem z pozycji kucznej lub we wchodzeniu po schodach często są pierwszymi skargami zgłaszanymi przez chorego na DM2. Chociaż zanik mięśni skroniowych jest dość częstym objawem, to bardzo rzadko obserwuje się zanik i osłabienie innych mięśni twarzy, w tym opadanie powiek [37]. Dość wybiórczo mogą być osłabione mięśnie zginacze szyi i zginacze głębokie palców dłoni. W części przypadków obserwuje się przerost mięśni łydek (ryc. 3.). Uważa się, że miotonia czynna występuje rzadziej niż w DM1. Wśród 234 pacjentów opisanych przez Daya i wsp., 25% nie wykazywało objawów miotonii w badaniu przedmiotowym, natomiast w badaniu elektrofizjologicznym tylko u 10% nie stwierdzano ciągów miotonicznych [37]. Odruchy głębokie są na ogół prawidłowe, ale mogą być też wygórowane. Charakterystyczny objaw, zgłaszany przez ponad połowę chorych, stanowią bóle mięśni niezależne od stopnia nasilenia miotonii [38,39]. Opisywane są przypadki, w których objawy mięśniowe – głównie osłabienie i miotonia – mają charakter przejściowy, nawracający, przypominający klinicznie porażenie okresowe [29]. W badaniu EMG u znacznej większości pacjentów, także u chorych bez klinicznych objawów miotonii, rejestruje się ciągi miotoniczne [37]. Czasami jednak do ich wykrycia konieczne jest rozszerzenie badania – podobnie jak w DM1. Biopsja mięśnia u chorych na DM2 charakteryzuje się zanikiem i przewagą włókien typu 2 oraz centralnie położonymi jądrami, których odsetek jest większy niż w mięśniach chorych na DM1. W mikroskopie elektronowym widoczne są wybitnie

zanikłe włókna mięśniowe w postaci skupisk jąder z niewielkim rąbkim cytoplazmy, tworzące tzw. struktury *nuclear clumps* [23,24,40,41]. Biopsja mięśnia nie jest obecnie standardem diagnostycznym w dystrofiach miotonicznych, gdyż została zastąpiona badaniami molekularnymi. Zdarza się jednak, że dopiero pacjenci z zaburzeniami mięśniowymi, u których wykonano biopsję, są kierowani na badania genetyczne w kierunku DM2, właśnie na podstawie obrazu wycinka mięśniowego.

Objawy pozamięśniowe w dystrofii miotonicznej typu 2

Zaćma ma identyczny charakter jak w DM1, pojawia się na ogół przed 6. dekadą życia i dotyka większość chorych. Rzadsze występowanie łysienia czołowego i wspomniany wcześniej brak osłabienia mięśni twarzy powodują, że pacjenci z DM2 nie wyróżniają się szczególnym wyglądem. Poważne zaburzenia kardiologiczne zdarzają się u chorych na DM2 prawdopodobnie rzadziej niż u chorych na DM1, opisywane są jednak pojedyncze przypadki ciężkich arytmii lub kardiomiopatii prowadzące do nagłego zgonu [42]. Najczęstszym zaburzeniem jest blok przedsionkowo-komorowy. Wszystkie zaburzenia hormonalne obserwowane w DM1 mogą pojawić się u pacjentów z DM2, ale brak jest jeszcze precyzyjnych danych o częstości ich występowania. Wydaje się, że ryzyko wystąpienia bezpłodności jest w tej grupie mniejsze. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej obserwuje się z podobną częstością jak w DM1. Iloraz inteligencji jest zwykle prawidłowy, natomiast zaburzenia przestrzenno-wzrokowe, nadmierna senność w ciągu dnia oraz profil zaburzeń psychologicznych (tzw. osobowość unikająca) występują z podobną częstością jak w DM1, ale w mniejszym nasileniu. Niedosłuch ma charakter odbiorczy i był już opisany w rodzinach fińskich – pierwszych zidentyfikowanych jako rodziny z DM2 [5]. RM mózgu chorych na DM2 wykazuje zmiany hiperintensywne w istocie białej o mniejszym nasileniu niż w DM1, ale o podobnej lokalizacji, natomiast zanik mózgu spotykany jest dość często, szczególnie w obszarze płatów potylicznych [31]. Dolegliwości związane z układem pokarmowym, takie jak zaparcia, biegunki, bóle brzucha, kamica żółciowa, występują rzadziej u pacjentów z DM2, mniejsze jest też ryzyko wystąpienia zaburzeń połykania [43]. Częstą skargą pacjentów z DM2 jest nadmierna potliwość, szczególnie rąk i tułowia, utrudniająca codzienne funkcjonowanie.

Badania laboratoryjne w dystrofii miotonicznej typu 2

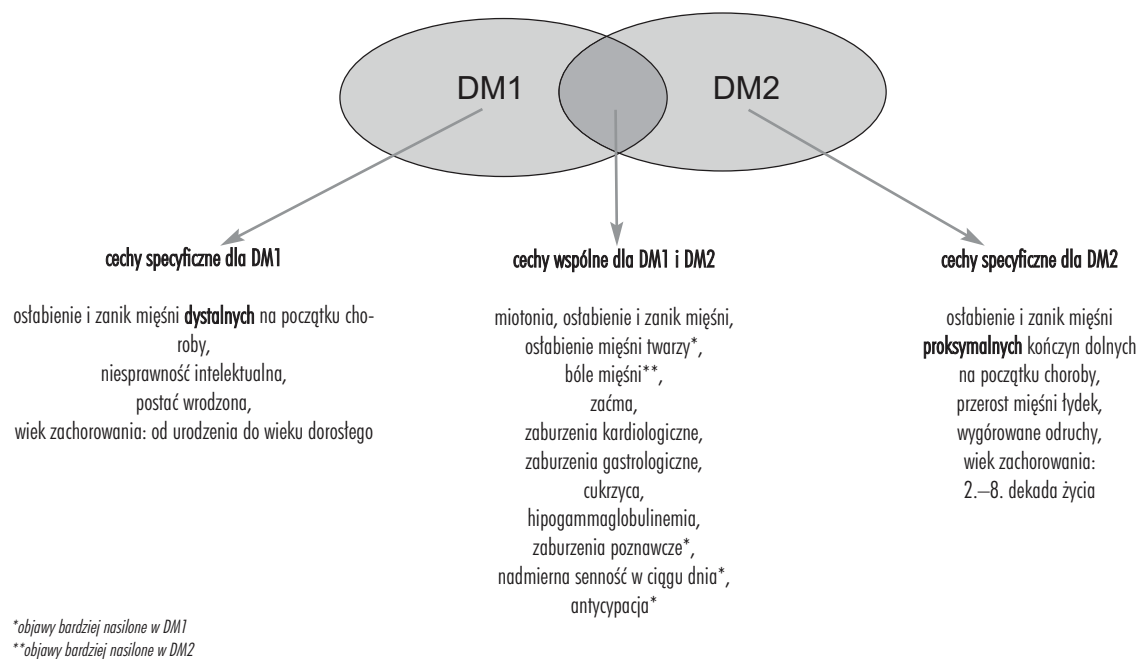
W DM2 odchylenia w badaniach laboratoryjnych wykazują zbliżony profil jak w DM1. Warto wspomnieć, że zwiększona aktywność CPK opisywana była jako jedyny objaw DM2 [29]. Częstszymi niż w DM1 zaburzeniami wydają się dyslipidemia i zwiększona aktywność GGTP [18,39].

Przebieg kliniczny dystrofii miotonicznej typu 1 i dystrofii miotonicznej typu 2

Postępujący zanik i osłabienie mięśni u pacjentów z DM1 mogą doprowadzić do ciężkich zaburzeń ruchowych i oddechowych. Do unieruchomienia dochodzi u 50% pacjentów. Najczęstszą przyczyną zgonu jest niewydolność oddechowa, drugą co do częstości – choroby układu krążenia. Średnia długość życia chorych na DM1 jest skrócona w stosunku do populacji ogólnej i zależy od nasilenia objawów. W badaniach Mathieu i wsp. średni czas przeżycia wśród pacjentów o wczesnym wieku zachorowania wyniósł ok. 48 lat, natomiast wśród pacjentów z postacią dorosłą – ok. 55 lat [44]. Czas przeżycia w DM2 wydaje się zbliżony do średniej życia w populacji, chociaż są notowane nagłe zgony osób młodych, spowodowane przyczynami kardiologicznymi [42]. Postęp choroby u pacjentów z DM2 jest powolny i rzadko dochodzi do głębokich zaburzeń ruchowych nawet w późnym wieku. Podobieństwa i różnice między dwiema formami DM podsumowano na ryc. 4.

Dystrofia miotoniczna a ciąża

Zaburzenia hormonalne u pacjentek z DM1 mogą być przyczyną trudności w zajściu w ciążę, a sama ciąża jest obciążona większym ryzykiem poronienia oraz porodu przedwczesnego [45]. Komplikacje okołoporodowe występują u ok. 11% pacjentek. Chore matki mogą również urodzić dziecko z najcięższą postacią DM1 – wrodzoną dystrofią miotoniczną (CMD), a zagrożenie to jest wprost proporcjonalne do liczby powtórzeń CTG. U kobiety o liczbie powtórzeń powyżej 300 CTG stwierdza się 59-procentowe ryzyko urodzenia dziecka z CMD, jeśli zaś liczba powtórzeń CTG przekracza 1000, ryzyko to osiąga 100% [19,45]. Badania Rudnik-Schöneborn i wsp. wykazały, że ciążę u pacjentek z DM2 są zagrożone 20-procentowym ryzykiem poro-



Ryc. 4. Podobieństwa i różnice pomiędzy dystrofią miotoniczną typu 1 i typu 2

Fig. 4. Similar and divergent features of myotonic dystrophy type 1 and type 2

nienia oraz przedwczesnego porodu [46]. Istotny jest fakt, że dotąd nie opisano w DM2 wrodzonej postaci tej choroby.

Różnicowanie dystrofii miotonicznych

Pełny zespół objawów DM1 jest tak charakterystyczny, że rozpoznanie – szczególnie w przypadkach rodzinnych – nie budzi wątpliwości. Ostatecznie o rozpoznaniu rozstrzyga badanie molekularne. Trudności diagnostyczne może sprawiać DM2, której fenotyp jest bardziej zróżnicowany, a w niektórych przypadkach ograniczony do pojedynczych objawów, np. miotonii. W takiej sytuacji trzeba brać pod uwagę miotonię wrodzoną Beckera lub Thomsena. W różnicowaniu należy także pamiętać o zespołach miotonicznych związanych z patologią kanału sodowego, takich jak porażenie hiperkaliemiczne lub miotonia zaostrzająca się pod wpływem potasu. Przykładem przemawiającym za szerszym podejściem do listy schorzeń, które należy różnicować z DM2, jest wykrycie w badaniach fińskich mutacji w genie ZNF9 u ponad 3% pacjentów z początkowym rozpoznaniem fibromialgii [47].

Badania diagnostyczne i leczenie dystrofii miotonicznej

Wieloukładowy charakter DM powoduje, że pacjenci wymagają opieki specjalistów z różnych dziedzin. Badanie okulistyczne, badania kardiologiczne, w tym EKG, Holter-EKG i ECHO serca, lipidogram, badania stężenia glukozy we krwi, badania hormonalne lub badania enzymów wątrobowych powinny być wykonywane przynajmniej raz w roku, w celu wczesnego wykrycia zaburzeń i wdrożenia leczenia zapobiegającego poważnym powikłaniom, łącznie ze zgonem [18,29]. Wszczepienie rozrusznika lub kardiowertera może być postępowaniem wyprzedzającym groźne skutki zaburzeń kardiologicznych. Leczenie dietetyczne hiperlipidemii może okazać się niewystarczające i w związku z tym należy rozważyć podawanie fibratów lub statyn, pamiętając jednak o miotoksycznym działaniu tych preparatów. W takich przypadkach celowe jest bardziej wnikliwe monitorowanie aktywności CPK i stanu klinicznego pacjenta. Nasilenie bólów lub osłabienie mięśni powinno być sygnałem do zmniejszenia dawki, a nawet odstawienia leku [29]. Należy pamiętać, że u pacjentów z DM1 mogą wystąpić komplikacje okołoperacyjne związane z gorszą wydolnością układu oddechowego oraz nieprawidłową reakcją mięśni na wziewne środki

znieczulenia ogólnego, szczególnie pochodne halotanu, co może prowadzić do pojawienia się zespołu hipertermii złośliwej. Uważa się, że pacjenci z DM2 są mniej narażeni na tego typu zagrożenia, jednak w okresie okołoperacyjnym – w celu zmniejszenia ryzyka nasilenia sztywności i bólów mięśni – zaleca się utrzymywanie umiarkowanego stężenia potasu (ok. 4 mEq/l) [29]. Nasiloną miotonią może być skutecznie łagodzona meksyletyną, po uprzednim wykluczeniu przeciwwskazań kardiologicznych do jej przyjmowania. W leczeniu miotonii stosowana może być także karbamazepina lub fenytoina, a także leki zmniejszające napięcie mięśni, np. baklofen lub tyzanidyna. Nadmierną senność w ciągu dnia można zmniejszyć modafinilem [48]. Bardzo ważnym elementem w procesie terapeutycznym pozostaje rehabilitacja ruchowa i fizykoterapia. Codzienne ćwiczenia i okresowe leczenie w ośrodkach rehabilitacyjnych pozwalają chorym na DM dłużej zachować sprawność i poprawić komfort życia. Ćwiczenia gimnastyczne nie powinny być nadmiernie intensywne, ze względu na możliwość wywołania zaburzeń kardiologicznych oraz niepotrzebnego przeciążania mięśni.

Poradnictwo genetyczne

Dystrofia miotoniczna jako schorzenie dziedziczne w sposób autosomalny dominujący wiąże się z 50-procentowym ryzykiem przekazania choroby potomstwu. Wobec występowania zjawiska antycypacji, głównie w DM1, można spodziewać się bardziej nasilonych objawów i wcześniejszego wieku zachorowania u potomka osoby chorej. Ponadto w tej postaci DM należy także pamiętać, że dotknięte chorobą kobiety mogą przekazać potomstwu najcięższą postać choroby – CMD. Informacją istotną dla rodziny chorego jest też możliwość wykonania u osób obarczonych ryzykiem zachorowania badań przed wystąpieniem objawów klinicznych oraz wykonania badań prenatalnych. W przypadku DM2 poradnictwo genetyczne powinno zawierać informacje, iż jest to łagodniejsza forma DM, nie opisano dotychczas formy wrodzonej, a zjawisko antycypacji nie jest tak oczywiste jak w DM1.

Czy istnieje dystrofia miotoniczna typu 3?

W 2004 r. wydawało się, że została zidentyfikowana kolejna postać DM [49]. Dotyczyło to schorzenia w wielopokoleniowej rodzinie, charakteryzującego się

proksymalnym zanikiem mięśni, zaćmą, miotonią w badaniu EMG oraz, dodatkowo, objawami otępienia czołowo-skroniowego. Dalsze badania genetyczne wykazały jednak, że były to przypadki choroby łączącej cechy wtórotowego zapalenia mięśni, choroby Pageta i otępienia czołowo-skroniowego (*Inclusion Body Myositis, Paget disease, fronto-temporal Dementia – IBMPD*), a właściwą mutację wykryto na chromosomie 9 w genie białka zawierającego walozynę [50]. W piśmiennictwie pojawiają się doniesienia o przypadkach, które mieszczą się w szerokim zakresie fenotypów obu postaci DM, występują rodzinie lub sporadycznie, ale badania molekularne wykluczyły mutacje zarówno w genie *DMPK*, jak i w genie *ZNF9* [38,51]. Przemawia to za znaczną heterogennością genetyczną DM.

Podłoże molekularne dystrofii miotonicznej

Dystrofia miotoniczna jest jedną z 30 poznanych dotychczas chorób uwarunkowanych mutacjami dynamicznymi i pierwszą opisaną chorobą genetyczną związaną z mutacją w obszarze genu, który nie ulega translacji. Stanowi ona również model nowo odkrytego mechanizmu molekularnego, w którym patogenna rola przypada RNA powstałemu ze zmutowanego allelu.

Dystrofia miotoniczna typu 1 spowodowana jest ekspansją CTG w nieulegającym translacji regionie 3' genu kodującego serynowo-treoninową kinazę białkową – *DMPK (myotonic dystrophy protein kinase gene)* na chromosomie 19q13.3. Prawidłowy zakres obejmuje od 5 do 37 powtórzeń; u osób chorych stwierdza się od 80 do ok. 4000 powtórzeń CTG. Mutacja ma charakter dynamiczny; zakres powtórzeń może zmieniać się z pokolenia na pokolenie. Związane jest to ze znaczną niestabilnością liczby powtórzeń w komórkach rozrodczych, a także w komórkach somatycznych. Oceniono, że rocznie liczba powtórzeń może wzrastać o 50–80 CTG [52]. W zakresie liczby powtórzeń nieprzekraczającej 400 CTG obserwuje się dość ścisłą korelację z nasileniem objawów klinicznych [53]. Chorzy z wrodzoną postacią DM1 mają od 730 do 4300 powtórzeń, średnio ok. 2000. Zakres od 38 do 49 powtórzeń uważa się za premutację, które nie powodują wystąpienia choroby, ale mają zwiększoną niestabilność i tendencję do ekspansji. Chorzy, u których stwierdza się od 55 do 99 powtórzeń CTG, mogą być klinicznie zupełnie zdrowi lub prezentować pojedyncze, bardzo łagodne objawy [54].

Białko *DMPK* jest powszechnie występującą w komórkach kinazą, której funkcja polega na fosforyla-

cji białek. Jej izoforma o rozmiarze 80 kD występuje w mięśniach szkieletowych i sercu. Struktura białka DMPK u pacjentów z DM1 jest prawidłowa, jedynie jego stężenie jest zmniejszone do ok. 50%, ale – jak wykazano – nie odgrywa to istotnej roli w patomechanizmie choroby [55].

Dystrofia miotoniczna typu 2 jest wywołana ekspansją CCTG w intronie (fragment genu niekodujący białka) genu białka 9 palca cynkowego (*zinc finger protein 9 gene* – ZNF9). Produkt genu ZNF9 jest białkiem biorącym udział w procesach transkrypcyjnych, które domeną palca cynkowego przylacza się do DNA, stabilizując jego strukturę. Pacjenci z DM2 nie mają ani zmniejszonego stężenia, ani upośledzonej funkcji tego białka [56]. Obserwacja ta dotyczy także nieprawidłowych homozygot [57]. Obszar podlegający zmianom w genie ZNF9 obejmuje nie tylko CCTG, ale także sekwencje rozdzielające – (TG)_n(TCTG)_n(CCTG)_n(TG)_n. Dotychczasowe badania wykazują, że utrata sekwencji rozdzielających powoduje destabilizację tego obszaru, co sprzyja ekspansji CCTG [16]. Osoby zdrowe mają od 11 do 26 powtórzeń. Liczba powtórzeń odpowiedzialnych za premutacje nie jest jeszcze dokładnie określona, a najmniejsza opisana patogenna mutacja zawierała 55 powtórzeń CCTG [58]. Zakres liczby powtórzeń wykrywanych u osób chorych jest w stosunku do pacjentów z DM1 znacznie większy – sięga 11 000; ekspansja liczy zwykle ok. 5000 powtórzeń. W badaniach Daya i wsp. stwierdzono korelację między wiekiem zachorowania a liczbą powtórzeń CCTG [37]. Analizowano 101 pacjentów i stwierdzono, że wcześniejszy wiek zachorowania wiązał się z mniejszą ekspansją. Taka korelacja nie jest spotykana w innych chorobach zależnych od zwielokrotnionych powtórzeń fragmentów DNA, w tym DM1; związana jest zapewne z mechanizmem niestabilności somatycznej, czyli zwiększaniem się liczby powtórzeń z wiekiem. Zjawisko to występuje w DM1, ale w DM2 jest bardziej nasilone.

Rola RNA w patogenezie dystrofii miotonicznej

Podstawowe pytanie, które stawiano od momentu poznania genu związanego z DM1 i jego produktu, dotyczyło zagadnienia, w jaki sposób mutacja w niekodującym fragmencie genu może wywołać tak szerokie spektrum objawów klinicznych. Odkrycie genetycznie różnej, ale fenotypowo podobnej postaci, DM2, nasunęło przypuszczenie, że u podłoża obu chorób leży wspólny patomechanizm. Nie mógł on być jednak

związany z produktem genu DMPK i genu ZNF9 z powodu braku funkcjonalnego związku pomiędzy tymi białkami oraz ze względu na fakt, że struktura i ilość tych produktów w obu chorobach nie są w istotny sposób zaburzone [55,56]. Najnowsze badania pozwoliły w znacznym stopniu wyjaśnić te intrygujące problemy. Odkryto, że DM1 i DM2 związane są z nowym, dotąd nieznanym mechanizmem molekularnym, w którym patogenną rolę odgrywa powstały ze zmutowanego allelu RNA (transkrypt) [59,60]. Konsekwencją ekspansji CUG (w RNA T-tymina zostaje zastąpiona U-uracylem) w mRNA genu DMPK i CCUG w mRNA genu ZNF9 jest zaburzenie alternatywnego składania (*splicing*) innych genów poprzez wpływ na aktywność białek regulujących ten proces. Białka te należą do dwóch rodzin – rodziny białek MBNL (*muscleblind-like*) oraz białek wiążących CUG (*CUG binding protein* – CUG-BP) lub CCUG (CCUG-BP). Morfologicznym odzwierciedleniem zaburzeń molekularnych w komórkach chorych na DM są ziarnistości jądrowe zawierające zmutowane transkrypty oraz białka MBNL [61]. Stawia się hipotezę, że przyczyną gromadzenia się białek MBNL w jądrze komórkowym są wydłużone sekwencje CUG i CCUG. Zatrzymanie białek MBNL w jądrze komórkowym powoduje zmniejszenie ich stężenia w cytoplazmie, co stwierdza się w obu postaciach DM [61–63]. Rola białek MBNL i CUG-BP/CCUG-BP w procesie składania genów jest przeciwna. Odpowiednie stężenie białek MBNL zapewnia prawidłowe składanie genów, właściwe dla komórek dojrzałych, pozwalające uzyskać z jednego transkryptu różne, funkcjonalnie czynne izoformy – produkty tego samego genu. Białka CUG-BP są odpowiedzialne za model składania genów w komórkach embrionalnych i płodowych. Stężenie białek CUG-BP zwiększa się w DM1, ale – co ciekawe – pozostaje niezmiennione w DM2 [61,64]. Na podstawie badań eksperymentalnych na modelu muszek owocówek stwierdzono, że zmiany degeneracyjne w mięśniach, charakterystyczne dla DM, nasilają się przy zwiększonej ekspresji CUG-BP [65]. Jednocześnie wykazano, że zmniejszenie stężenia CUG-BP w komórkach mięśniowych u chorych na DM1 nie przywraca prawidłowej regulacji składania genów [66]. Zaburzenie proporcji pomiędzy stężeniem CUG-BP i stężeniem MBNL powoduje nieprawidłową regulację ekspresji genów, ale wydaje się obecnie, że kluczową rolę w tym procesie odgrywa jednak zmniejszenie stężenia białek MBNL [67]. Eksperymentalnym dowodem potwierdzającym tę hipotezę jest

wystąpienie miotonii i zaćmy oraz nieprawidłowości w składaniu genów w modelu myszy transgenicznej pozbawionej genu *Mbnl* oraz ustąpienie tych zaburzeń w wyniku wzmożonej ekspresji *Mbnl* [68]. Zaburzona regulacja alternatywnego składania genów prowadzi do powstania nieprawidłowych transkryptów i w konsekwencji – płodowych form białek, które w dojrzałym organizmie nie spełniają prawidłowo swoich funkcji, co wywołuje zmiany patologiczne w komórce. Wykazano, że tak powszechnie obserwowana w DM miotonia jest skutkiem zaburzenia składania genu kanału chlorkowego (*CLC1*), w wyniku czego powstaje izoforma płodowa tego genu, zawierająca ekson 7a, który w warunkach prawidłowych zostaje usunięty w procesie obróbki potranskrypcyjnej [69]. Zmiana ta powoduje znaczne zmniejszenie liczby kanałów chlorkowych i przepływu jonów Cl^- , co doprowadza do utraty podstawowej funkcji tych kanałów, jaką jest utrzymywanie spoczynkowego potencjału błony komórki mięśniowej. W konsekwencji dochodzi do nadpobudliwości błony komórkowej, czego efektem klinicznym jest miotonia. Podobny mechanizm dotyczy genu dla receptora insulinowego (*insulin receptor* – IR). W wyniku nieprawidłowego składania tego genu zachowany zostaje ekson 11, którego obecność powoduje zwiększoną ekspresję w mięśniach szkieletowych izoformy znacznie mniej wrażliwej na insulinę. Oporność na insulinę, cukrzyca lub inne zaburzenia gospodarki węglowodanowej są zapewne wynikiem przewagi tej izoformy IR [64]. Zaburzone procesy metabolizmu RNA w dystrofii miotonicznej opisano również dla genu troponiny sercowej, białka τ , białka związanego z miotubularyną i wielu innych [70]. Lista genów, których składanie jest zaburzone w DM, stale się powiększa; pozostaje jeszcze wyjaśnienie związku pomiędzy zmianami molekularnymi a różnorodnym obrazem klinicznym tej choroby.

Perspektywy terapii genowej

Poznanie mechanizmu leżącego u podłoża zaburzeń molekularnych w DM stwarza możliwość opracowania terapii, która nie będzie wymagać bezpośredniej ingerencji w genom, natomiast może oprzeć się na modyfikacji procesów transkrypcyjnych. Obiecującym kierunkiem poszukiwań jest zwiększenie stężenia białek z rodziny MBNL, co – jak wykazały badania eksperymentalne – doprowadza w modelach zwierzęcych do przywrócenia prawidłowego alternatywnego składania

genów dotkniętych procesem patologicznym [67,71]. Nadzieje może budzić zastosowanie tzw. interferencyjnego RNA (RNAi), którego działanie w komórce polega na blokowaniu ekspresji wybranych genów. Użycie RNAi w DM miałyby na celu wyciszenie aktywności zmutowanych transkryptów genu, odpowiednio, *DMPK* i *ZNF9*, i tym samym zahamowanie kaskady patologicznych następstw wywoływanych przez te transkrypty [72,73]. Innym podejściem jest zastosowanie metody ominięcia eksonu (*skipping exon*) przy użyciu antysensownych oligonukleotydów (*antisense oligonucleotide* – AON). Odpowiedni AON, przyłączając się do specyficznego miejsca splicingowego w pre-mRNA, np. genu kanału chlorkowego, powoduje, że dodatkowy ekson – 7a – zostaje ominięty, co pozwala na przywrócenie prawidłowego procesu składania tego genu. Takie doświadczenie przeprowadzono z dobrym efektem na modelu myszy transgenicznej, uzyskując ustąpienie miotonii [50].

Podsumowanie

Opieka nad chorym na DM jest wyzwaniem dla specjalistów wielu dziedzin. Wczesne rozpoznanie zaburzeń kardiologicznych, hormonalnych czy nieprawidłowości metabolicznych pozwala na wdrożenie odpowiedniego leczenia, które w dużym stopniu może zapobiec powikłaniom i przedłużyć okres sprawności oraz czas przeżycia pacjentów. Dystrofia miotoniczna otwiera listę chorób genetycznych, w których za zmiany patologiczne odpowiedzialny jest nie produkt genu, czyli białko, ale RNA, wywołujący kaskadę nieprawidłowych procesów prowadzących do różnorodnych objawów klinicznych. Ten nowy mechanizm, odkryty i opisany po raz pierwszy dzięki badaniom nad DM, określa się jako toksyczne działanie mRNA (*RNA toxic gain of function*), a choroby z nim związane nazywa schorzeniami zależnymi od RNA. Takimi schorzeniami są również: zespół drżenia i ataksji związany z łamliwym chromosomem X, ataksja rdzeniowo-mózdkowa typu 8 oraz schorzenie podobne do choroby Huntingtona – typ 2 [70]. Toksyczny efekt RNA tłumaczy brak funkcjonalnego związku pomiędzy produktami genów obu dystrofii miotonicznych, przy wyraźnych podobieństwach klinicznych i biochemicznych tych chorób. Pozostaje jeszcze wiele pytań dotyczących roli poszczególnych elementów tego złożonego patomechanizmu, ale wydaje się, że dalsze badania już wkrótce dostarczą na nie odpowiedzi i zostaną bezpośrednio wykorzystane do opracowania skutecznej terapii.

Oświadczenie

Praca wykonana w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego 2 PO5E 01929.

Piśmiennictwo

- Steinert H. Myopatologiczne Beiträge 1. Über das klinische und anatomische Bild des Muskelschwunds der Myotoniker. *Dtsch Zeitschr Nervenheilk* 1909; 37: 58-104.
- Aslanidis C., Jansen G., Amemiya C. i wsp. Cloning of the essential myotonic dystrophy region and mapping of the putative defect. *Nature* 1992; 355: 548-551.
- Mahadevan M., Tsilfidis C., Sabourin L. i wsp. Myotonic dystrophy mutation: An unstable CTG repeat in the 3'untranslated region of the gene. *Science* 1992; 255: 1253-1255.
- Ricker K., Koch M.C., Lehmann-Horn F. i wsp. Proximal myotonic myopathy: a new dominant disorder with myotonia, muscle weakness and cataracts. *Neurology* 1994; 44: 1448-1452.
- Udd B., Krahe R., Wallgren-Pettersson K. i wsp. Proximal myotonic dystrophy – a family with autosomal dominant muscular dystrophy, cataracts, hearing loss and hypogonadism: heterogeneity of proximal myotonic syndromes? *Neuromuscul Disord* 1997; 7: 217-228.
- Ranum L.P., Rasmussen P.F., Benzow K.A. i wsp. Genetic mapping of a second myotonic dystrophy locus. *Nat Genet* 1998; 19: 196-198.
- Ricker K., Grimm T., Koch M.C. i wsp. Linkage of proximal myotonic myopathy to chromosome 3q. *Neurology* 1999; 52: 170-171.
- Liquori C.L., Ricker K., Moseley M.L. i wsp. Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* 2001; 293: 864-867.
- New nomenclature and DNA testing guidelines for myotonic dystrophy type 1. The International Myotonic Dystrophy Consortium (IDMC). *Neurology* 2000; 54: 1218-1221.
- Harper PS. Myotonic dystrophy. *W.B. Saunders*, London 2001.
- Mathieu J., De Braekeleer M., Prévost C. Genealogical reconstruction of myotonic dystrophy in the Saguenay-Lac-Saint Jean area (Quebec, Canada). *Neurology* 1990; 40: 839-842.
- Day J.W., Ricker K., Jacobsen J.F. i wsp. Myotonic dystrophy type 2: molecular, diagnostic and clinical spectrum. *Neurology* 2003; 60: 657-664.
- Töth C., Dunham C., Suchowersky O. i wsp. Unusual clinical, laboratory, and muscle histopathological findings in a family with myotonic dystrophy type 2. *Muscle Nerve* 2007; 35: 259-264.
- Saito T., Amakusa Y., Kimura T. i wsp. Myotonic dystrophy type 2 in Japan: ancestral origin from caucasian families. *Neurogenetics* 2008; 9: 61-63.
- Neville C.E., Mahadevan M.S., Barceló J.M. i wsp. High resolution genetic analysis suggests one ancestral predisposing haplotype for the origin of the myotonic dystrophy mutation. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 45-51.
- Liquori C.L., Ikeda Y., Weatherspoon M. i wsp. Myotonic dystrophy type 2: human founder haplotype and evolutionary conservation of the repeat tract. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 849-862.
- Bachinski L.L., Udd B., Meola G. i wsp. Confirmation of the type 2 myotonic dystrophy (CCTG)_n expansion mutation in patients with proximal myotonic myopathy/proximal myotonic dystrophy of different European origins: a single shared haplotype indicated and ancestral founder effect. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 835-848.
- Schara U., Schoser B.G. Myotonic dystrophies type 1 and 2: a summary on current aspects. *Semin Pediatric Neurol* 2006; 13: 71-79.
- Upadhyay K., Thompson A., Luckas M.J. Congenital myotonic dystrophy. *Fetal Diagn Ther* 2005; 20: 512-514.
- Zeesman S., Carson N., Whelan D.T. Paternal transmission of the congenital form of myotonic dystrophy type 1: a new case and review of the literature. *Am J Med Genet* 2002; 107: 222-226.
- Di Constanzo A., Cristofaro M., Di Iorio G. i wsp. Paternally inherited case of congenital DM1: brain MRI and review of literature. *Brain Development* 2009; 31: 79-82.
- Bassez G., Lazarus A., Desguerre I. i wsp. Severe cardiac arrhythmias in young patients with myotonic dystrophy type 1. *Neurology* 2004; 63: 1939-1941.
- Vihola A., Bassez G., Meola G. i wsp. Histopathological changes of myotonic dystrophy type 1 (DM1) and PROMM/DM2. *Neurology* 2003; 60: 1854-1857.
- Nadaj-Pakleza A., Łusakowska A., Szmjdt-Sałkowska E. i wsp. Muscle pathology in myotonic dystrophies – an ultrastructural study. 6th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting, Milan 2007, P46.
- Sovari A.A., Bodine C.K., Farokhi F. Cardiovascular manifestations of myotonic dystrophy-1. *Cardiol Rev* 2007; 15: 191-194.
- Meola G., Sansone V., Perani D. i wsp. Executive dysfunction and avoidant personality trait in myotonic dystrophy type 1 (DM-1) and in proximal myotonic myopathy (PROMM/DM-2). *Neuromuscul Disord* 2003; 13: 813-821.
- Meola G., Sansone V. Cerebral involvement in myotonic dystrophies. *Muscle Nerve* 2007; 36: 294-306.
- Ono S., Takahashi K., Jinnai K. i wsp. Loss of serotonin-containing neurons in the raphe of patients with myotonic dystrophy: A quantitative immunohistochemical study and relation to hypersomnia. *Neurology* 1998; 50: 535-538.
- Udd B., Meola G., Krahe R. i wsp. 140th ENMC International Workshop: Myotonic Dystrophy DM2/PROMM and other myotonic dystrophies with guidelines on management. *Neuromuscul Disord* 2006; 16: 403-413.
- Wright R.B., Glantz R.H., Buchter J. Hearing loss in myotonic dystrophy. *Ann Neurol* 1998; 23: 202-203.
- Kornblum C., Reul J., Kress W. i wsp. Cranial magnetic imaging in genetically proven myotonic dystrophy type 1 and 2. *J Neurol* 2004; 251: 710-714.
- Giorgio A., Dotti T.M., Battaglini M. i wsp. Cortical damage in brains of patients with adult-form of myotonic dystrophy type 1 and no or minimal MRI abnormalities. *J Neurol* 2006; 253: 1471-1477.

33. Sergeant N., Sablonnière B., Schraen-Maschke S. i wsp. Dysregulation of human brain microtubule-associated tau mRNA maturation in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 2143-2155.
34. Hilbert J., Martens W., Parkhill A. i wsp. Gastrointestinal (GI) symptoms in myotonic dystrophy type 1 (DM1) Patients enrolled in the NIH registry, 6th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting, Mediolan 2007.
35. Caleron M.J., Manrique P., Gonzales R. i wsp. Multiple pilomatricomas associated with myotonic dystrophy. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 1995; 5: 51-53.
36. Ricker K. Myotonic dystrophy and proximal myotonic myopathy. *J Neurol* 1999; 246: 334-338.
37. Day J.W., Ricker K., Jacobsen J.F. i wsp. Myotonic dystrophy type 2. Molecular, diagnostic and clinical spectrum. *Neurology* 2003; 60: 657-663.
38. Meola G., Sansone V., Milanese S.D. i wsp. Lack of DM1-(CTG)_n and DM2-(CCTG)_n mutations in two families with autosomal dominant muscles weakness, myotonia and cataracts: DM3? *Neurology* 2004; 62: AA354.
39. Łusakowska A., Sulek A., Nadaj-Pakleza A. i wsp. Myotonic dystrophy type 2: phenotypic variability in 23 patients. *J Neurology* 2007; 254 (supl. 3): 159.
40. Nadaj A., Łusakowska A., Sulek A. i wsp. Myotonic dystrophy: Are nuclear clumps a myopathological hallmark lesion of DM2? *Eur J Neurol* 2007; 12 (supl. 2): 321.
41. Bassez G., Chapoy E., Bastuji-Garin S. i wsp. Type 2 myotonic dystrophy can be predicted by the combination of type 2 muscle fiber central nucleation and scattered atrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67: 319-325.
42. Schoser B.G., Ricker K., Schneider-Gold C. i wsp. Sudden cardiac death in myotonic dystrophy type 2. *Neurology* 2004; 63: 2402-2404.
43. Tieleman A., Knuijt S., vanVliet J. i wsp. Dysphagia is present but mild in myotonic dystrophy type 2. *Neuromuscul Disord* 2009; 19: 196-198.
44. Mathieu J., Allard P., Potvin L. i wsp. A 10-year study of mortality in a cohort of patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 1999; 52: 1658-1662.
45. Magee A.C., Hughes A.E., Kidd A. i wsp. Reproductive counseling for women with myotonic dystrophy. *J Med Genet* 2002; 39: E15.
46. Rudnik-Schöneborn S., Scheider-Golg C., Raabe U. i wsp. Outcome and effect of pregnancy in myotonic dystrophy type 2. *Neurology* 2006; 66: 579-580.
47. Auvinen S., Suominen T., Hannonen P. i wsp. Myotonic dystrophy type 2 found in two of sixty three persons diagnosed as having fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3627-3631.
48. MacDonald J.R., Hill J.D., Tarnopolsky M.A. Modafinil reduces excessive somnolence and enhances mood in patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 2002; 59: 1876-1880.
49. Le Ber I., Martinez M., Campion D. i wsp. A non-DM1, non-DM2 multisystemic myotonic disorder with frontotemporal dementia: Phenotype and suggestive mapping of the DM3 locus to chromosome 15q22-24. *Brain* 2004; 127: 1979-1992.
50. Watts G.D., Wymer J., Kovach M.J. i wsp. Inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia is caused by mutant valosin-containing protein. *Nat Genet* 2004; 36: 377-381.
51. Wieser T., Bönsch D., Eger K. i wsp. A family with PROMM not linked to the recently mapped PROMM locus DM2. *Neuromuscul Disord* 2000; 10: 141-143.
52. Martorell L., Moncton D.G., Gamez J. i wsp. Progression of somatic CTG repeat length heterogeneity in the blood cells of myotonic dystrophy patients. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 307-312.
53. Hamshire M.G., Harley H., Harper P. i wsp. Myotonic dystrophy: the correlation of (CTG) repeat length in leukocytes with age at onset is significant only for patients with small expansions. *J Med Genet* 1999; 36: 59-61.
54. Arsenault M.E., Prévost C., Lescault A. i wsp. Clinical characteristics of myotonic dystrophy type 1 patients with small CTG expansions. *Neurology* 2006; 66: 1248-1250.
55. Salvatori S., Fanin M., Trevisan C.P. i wsp. Decreased expression of DMPK: correlation with CTG repeat expansion and fibre type composition in myotonic dystrophy type 1. *Neurol Sci* 2005; 26: 235-242.
56. Botta A., Caldarola S., Vallo L. i wsp. Effect of [CCTG]_n repeat expansion on ZNF9 expression in myotonic dystrophy type II (DM2). *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 329-334.
57. Schoser B.G., Kress W., Walter M.C. i wsp. Homozygosity for CCTG mutation in myotonic dystrophy type 2. *Brain* 2004; 127: 1868-1877.
58. Bachinski L.L., Czernuszewicz L.S., Ramagli L.S. i wsp. Pre-mutation allele pool in myotonic dystrophy type 2. *Neurology* 2009; 72: 490-497.
59. Day J.W., Ranum L.P. RNA pathogenesis of the myotonic dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2005; 15: 5-16.
60. Wheeler T.M., Lueck J.D., Swanson M.S. i wsp. Corrections of CIC-1 splicing eliminates chloride channelopathy and myotonia in mouse models of myotonic dystrophy. *J Clin Invest* 2007; 117: 3952-3957.
61. Lin X., Miller J.W., Mankodi A. i wsp. Failure of MBNL-1 dependent post-natal splicing transitions in myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 2087-2097.
62. Mancodi A., Teng-Umuay P., Krym M. i wsp. Ribonuclear inclusion in skeletal muscle in myotonic dystrophy types 1 and 2. *Ann Neurol* 2003; 54: 760-768.
63. Kanadia R.N., Johnstone K.A., Mancodi A. i wsp. A muscle-blind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* 2003; 302: 1978-1980.
64. Savkur R.S., Philips A.V., Cooper T.A. Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 2001; 29: 40-47.
65. de Haro M., Al-Ramahi I., De Gouyon B. i wsp. MBNL and CUGBP1 modify expanded CUG-induced toxicity in a Drosophila model of myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 2138-2145.
66. Dansithong W., Paul S., Comai L. i wsp. MBNL 1 is the primary determinant of focus formation and aberrant insulin receptor splicing in DM1. *J Biol Chem* 2005; 280: 5773-5780.
67. Cardani R., Baldassa S., Botta A. i wsp. Ribonuclear inclusions and MBNL1 nuclear sequestration do not affect myoblast differentiation but alter gene splicing in myotonic dystrophy type 2. *Neuromuscul Disord* 2009; 19: 335-343.

68. Kanadia R.N., Shin J., Yuan Y. i wsp. Reversal of RNA missplicing and myotonia after muscleblind overexpression in a mouse poly(CUG) model for myotonic dustrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 11748-11753.
69. Charlet B.N., Savkur R., Singh G. i wsp. Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol Cell* 2002; 10: 45-53.
70. Osborne R.J., Thornton C.A. RNA-dominant diseases. *Hum Mol Genet* 2006; 15: R162-R169.
71. Cooper T.A. A reversal of misfortune for myotonic dystrophy? *N Engl J Med* 2006; 355: 1825-1827.
72. Denovan-Wright E.M., Davidson B.L. RNAi: a potential therapy for the dominantly inherited nucleotide repeat diseases. *Gene Ther* 2006; 13: 525-531.
73. Mahadevan M.S., Yadava R.S., Yu Q. i wsp. Reversible model of RNA toxicity and cardiac conduction defects in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 2006; 38: 1066-1070.