

## MYOTONICKÁ DYSTROFIA A MUTÁCIA GÉNU MYOTONÍN PROTEÍNKINÁZY

RUŠČÁK J.

## MYOTONIC DYSTROPHY AND MYOTONIN PROTEIN KINASE GENE MUTATIONS

Myotonic dystrophy (DM) is an autosomal dominant defect associated with an underlying CTG trinucleotide repeat expansion of the myotonin protein kinase (MTPK) gene at a locus on chromosome 19 (19q13.3). The triplet repeat expansions occur in 3' non-coding regions of MTPK genes, CTG repeat expansions predetermine the clinical severity and the age at which the disease occurs: the larger the expansions, the higher the probability of congenital DM transmission, as a rule, by maternal line. The gene's product — myotonin protein kinase — has Mr 62 and/or 53kD and is mainly found in the striated muscles and in the myocardium. The enzyme is of serin threonin kinase character. Its participation in the initiation and progress of the disease has not yet been clarified up. (Ref. 63.)

**Key words:** myotonic dystrophy, myotonin protein kinase gene mutations, myotonin protein kinase.

*Bratisl Lek Listy 98; 1997: 247–277*

Myotonická dystrofia (DM) je autozómovo dominantný defekt, ktorého základom je expanzia CTG tripletu génu myotonín proteínkinázy (MTPK) lokalizovaného na chromozóme 19 v lóku 19q13.3. Expanzie tripletov sa nachádzajú v 3' nekódujúcej oblasti génu. Dĺžka expanzií CTG repetov predurčuje klinickú závažnosť a vek začiatku choroby. Čím väčšie sú expanzie, tým väčšia je aj pravdepodobnosť vzniku kongenitálnej DM prenášanej spravidla maternálnou líniou. Génový produkt — myotonín proteínkináza — s Mr 62 a 53 kD sa nachádza hlavne v priečne pruhovaných svaloch a myokarde. Enzým má charakter serín treonínkinázy. Jeho účasť na iniciácii a progresii choroby nie je dosiaľ objasnená. (Lit. 63.)

**Kľúčové slová:** myotonická dystrofia, mutácie génu myotonín proteínkinázy, myotonin proteínkináza.

*Bratisl. lek. Listy, 98, 1997, č. 5, s. 247–277*

Myotonická dystrofia (DM) je jedným z najčastejších a najvariabilnejších ochorení medzi muskulárnymi dystrofiami u dospelých. Ochorenie je dedičné autozómovo dominantným spôsobom a postihuje jedného z 8000 jedincov. Klinicky sa prejavuje myotóniou, svalovou dystrofiou (atrofiami tvárového a žuvacieho svalstva, svalov predlakti a predkolení), zhoršením kognitívnych funkcií, holohlavosťou, kataraktou, atrofiou testes, menštruačnými problémami, postihnutím myokardu a hladkého svalstva gastrointestinálneho traktu, zníženými hladinami IgG a cukrovkou v dôsledku inzulínorezistencie. Myotónia pri DM sa spája so spomalenou inaktiváciou sodíkového kanála (Franke a spol., 1990).

Genetickým základom myotonickéj dystrofie je nestabilná expanzia (CTG)<sub>n</sub> tripletov v 3' netranslátovanej oblasti za stop kodónom génu pre myotonickú dystrofiu (asi 250 kb párov za stop kodónom) na chromozóme 19 (19q13.3), kódujúceho myotonín pro-

teínkinázu (MTPK). Táto génová expanzia sa zistila až 95 % prípadov DM (Thornton a spol., 1993). Gén MTPK je dlhý 12–14 kb a skladá sa zo 14 alebo 15 exónov (Caskey a spol., 1992; Mahadevan a spol., 1993). Výsledkom transkripcie tohto génu je produkcia viacerých alternatívne scelených foriem mRNA s rozličným stupňom expresie v rôznych tkanivách a na rôznom stupni ontogenézy. Je opísaných osem alternatívne spojených foriem (Fu a spol., 1993). Rozdiely sa vyskytujú na 3' a 5' konci mRNA, pričom jej centrálna oblasť obsahujúca kinázovú katalytickú doménu je konštantná pri všetkých alternatívnych formách mRNA. O patofyziológii ochorenia a o vzťahu medzi dysfunkciou MTPK a chorobnými symptómami niet zatiaľ dostačujúcich údajov (Fischbeck, 1994).

Gén MTPK prejavuje nestálosť tripletov na 3' koncovnej netranslátovanej oblasti (Buxton a spol., 1992). Stanovilo sa na ňom ATP väzbové miesto, miesto kinázovej aktivity, zvinutá slučka na prechode do alfa-helixovej štruktúry a membránová slučka (Caskey a spol., 1992). Práve za membránovú slučku sa nachádza región génu, v ktorom dochádza k expanzii CTG tripletov pri DM: 0 až 50 tripletových expanzií sa považuje za normu, 50–80 tripletových expanzií za premutáciu a nad 80 tripletových expanzií za patologické

kú mutáciu (Ashizawa a spol., 1994; Caskey a spol., 1992; O'Hoy a spol., 1993). Žiadna iná zmena v géne MTPK sa doteraz nepozorovala. Táto sekvencia má tendenciu k predlžovaniu v nasledujúcich generáciách, čo súvisí s ťažšími fenotypovými prejavmi ako v predchádzajúcej generácii a s manifestáciou príznakov ochorenia v skoršom veku u potomkov ako u rodičov. Medzi veľkosťou počtu opakovaní tripletov a klinickou závažnosťou ochorenia existuje pozitívna korelácia. Tripletová nestabilita v somatických bunkách pacientov s DM je pravdepodobne i príčinou hybridizačnej škrvny pozorovanej v analýzach génu metódou Southern blot (Ashizawa a spol., 1993; Brook a spol., 1992; Pizutti a spol., 1993).

Dôležitou otázkou, ktorú treba zodpovedať, je, akým spôsobom sa môže exprimovať MTPK mutácia sama v dominantnej forme. Jedna možnosť je, že mutácia poruší komplexný obraz alternatívneho spájania v dôležitých regiónoch mRNA. 3' netranslátované regióny mRNA vykazujú medzidruhová konzervatívu, a preto môžu byť dôležité na stabilizáciu mRNA a jej správne procesovanie a transláciu. Doteraz sa však nezistil alternatívny zväzok v ktoromkoľvek tkanive v nekódujúcom regióne DM génu (Jansen a spol., 1992).

Inou možnosťou je, že genomická mutácia môže ovplyvňovať expresiu iných génov v regióne, a tým do určitej miery meniť celkovú stabilitu regiónu. U myši, ale aj u ľudí bol klonovaný gén DMR-N9, ktorý leží v tesnom susedstve génu MTPK. Kým MTPK gén sa vysoko exprimuje len v srdci a svaloch, gén DMR-N9 sa vo veľkej miere exprimuje v mozgu a testes. Keďže tieto tkanivá sú pri DM ťažko postihnuté, dá sa predpokladať i spoluúčasť DMR-N9 génu vo fenotype DM. Zatiaľ však neboli publikované údaje o exprimovaných charakteristikách DMR-N9 génu u pacientov s DM (Jansen a spol., 1992).

Ďalšou možnosťou je, že expanzná mutácia postihuje hladinu expresie MTPK mRNA, a tým výsledné hladiny proteínov. Dominantný efekt môže byť podmienený dávkovým efektom mutácie génu kódujúceho MTPK (Jansen a spol., 1992).

Niet dôkazov o metylačných procesoch spojených s rozdielmi sekvencií DNA v normálnej a mutovanej forme DNA (Caskey a spol., 1992; Shaw a spol., 1993).

Krátke opakované repety sa bežne nájdu v ľudskom genóme. Zistená frekvencia v chromozóme X je jeden repet na každých 300—500 kb. Repetový motív predstavuje 1—5 nukleotidov a tento región sa označuje ako mikrosatelit, jednoduchý sekvenčný repet alebo krátkotandemový repet. Repety vznikajú v dôsledku defektného postreplikačného heteroproduktu pri zníženej chýbnej reparácii zmenenej DNA (Kunkel, 1993). Viaceré mikrosatelity sú polymorfne, čím sa má na mysli, že počet repetových elementov na lokuse je rôzny i v normálnej populácii. Polymorfna povaha týchto sekvencií sa využíva na väzbové štúdie a diagnostické aplikácie. Ich dĺžku možno ľahko odkryť polymerázovou reťazovou reakciou (PCR) za použitia syntetických oligonukleotidov, ktoré slúžia ako primery PCR (Pizutti a spol., 1993). Variabilita týchto špeciálnych sekvencií je známkou o ich nestabilnej povahe. Táto nestabilita vedie ku skráteniu alebo predĺženiu sekvencií DNA počas mitotického alebo meiotického delenia a môže ovplyvňovať štruktúru génu, ako aj funkčné charakteristiky, ak sú súčasťou prepisovaných alebo regulačných oblastí genómu. Viaceré gény s repetovými zložkami v kódujúcich oblastiach už boli izolované a charakterizované a viaceré z nich majú tendenciu k instabilite (Caskey a spol., 1992; Pizutti a spol., 1993).

Nestabilita CTG repetu v rámci „patologického rozpätia“ (viac ako 50 repetov) kontrastuje s výraznou stabilitou v rámci „fyzio-

logického rozpätia“ (do 50 repetov). Údaje o prenose niektorých haplotypov geneticky spojených s DM lokusom naznačujú, že DM mutácia môže byť výsledkom jednej alebo mála originálnych mutácií, ktoré zväčšili alelu predka zo stabilného do nestabilného stavu (Ashizawa a Hejtmancik, 1990). Neboli zdokumentované prípady spontánnej mutácie u DM. Predpokladajú sa viaceré mechanizmy veľkostnej zmeny za sebou idúcich krátkych repetov. Jedna možnosť je nerovnaká rekombinácia medzi homológne opakovanými jednotkami. Dosiaľ sa však nenašla zmena v okrajových regiónoch repetov MTPK génu (Caskey a spol., 1992).

Klinická expresia DM je variabilná, a to aj v rámci tej istej rodiny, aj keď choroba je generikve gegeniak. homogénna. Variabilita z vážnosti choroby kľkostou repetovej expanzie. Vo všeobecnosti je choroba tým ťažšia, čím dlhšia je expanzia sekvencie trinukleotidových repetov (CTG)<sub>n</sub>. Väčšie veľkosti opakovaní (1,5—6 kb) sa pozorujú u pacientov s kongenitálnym typom DM (CDM), minimálne postihnutí jedinci majú repetovú veľkosť menšiu ako 0,5 kb (Harley a spol., 1993). Pri sledovaní genetických zmien v jednotlivých familiárnych prípadoch sa zistilo, že expanzia tripletov sa u potomkov zvyšuje, a to hlavne pri maternálnom prenose CDM. V paternálnej línii sa malé expanzie u potomkov zväčšovali, kým veľké otcovské expanzie mali tendenciu skracovať sa alebo sa nemenili. V maternálnej línii sa takéto vzťahy nezistili a repety sa spravidla zvyšovali, čo svedčí o tom, že pohlavie rodičov ovplyvňuje expanziu repetov u potomkov. Paternálne prenášané repety neprevyšujú počet tisíc, kým maternálne prenášané sú viac ako tisíc pri CDM, ako aj DM (Ashizawa a spol., 1994; Brunner a spol., 1993; O'Hoy a spol., 1993). Rozšírený repet sa môže prenášať tak, že mikrosatelit s piatimi repetmi CTG sa mutáciou zmení na 16 alebo 36 repetov a tieto potom môžu slúžiť ako základ pre ďalšie mutácie. Ak v ďalšej generácii mutovaný repet presiahne počet 50 CTG tripletov, dôjde k jeho rýchlejšej a ireverzibilnej instabilite a k prejavom choroby (Lavedan a spol., 1993). Existuje však aj DM bez expanzie repetu.

Tsilfidis a spol. (1992) klasifikovali expanzie tripletových repetov pri DM do 4 skupín: E0: žiadna expanzia, E1: 0—500 repetových expanzií, E2: 500—1000 repetových expanzií, E3: 1000—1500 repetových expanzií, E4: viac ako 1500 repetových expanzií. Väčšina ich pacientov mala expanzie mierneho stupňa (E1 a E2) a v skupine E4 boli len 3 % celkového počtu pacientov. Korelácia medzi vekom začiatku choroby a veľkosťou repetu bola zjavná, viac ako 50 % ťažko postihnutých prípadov patrilo do skupiny E4.

Variácia repetovej veľkosti medzi generáciou nie je vždy prenosom od rodiča na dieťa. Boli opísané viaceré prípady s klinickou anticipáciou bez zmien veľkosti DM repetu. Okrem toho však boli opísané viaceré prípady so zmenšením repetu a nezmenenou alebo zníženou klinickou závažnosťou v nasledujúcich generáciách (Giordano a spol., 1994). Väčší podiel prípadov zmenšenia CTG repetov sa udáva u párov otec—dieťa. Ak sa dosiahne prah maximálnej expanzie, nestála otcovská alela sa môže zhluknúť namiesto expandovania, čo by mohlo vysvetliť výlučný prenos vrodenej choroby po maternálnej línii (Lavedan a spol., 1993 a, b). CDM je najťažšou formou ochorenia s extrémom opakovania klinickej závažnosti a veľkosti repetovej expanzie. CDM sa dedí takmer výlučne po maternálnej línii. Zjavne jedinou determinantou klinického obrazu nie je len dĺžka repetu, keďže ani veľmi veľká expanzia nie je nevyhnutná na rozvoj najťažších foriem choroby. Niektoré prípady veľmi ťažkej choroby preukazovali malé expanzie (trieda E2) a niektoré expandované alely v triede E4 sa pozorovali aj u nepostihnutých detí.

Dĺžka matkinho mutovaného repetu a jej klinický fenotyp ovplyvňujú však spravidla veľkosť dedenej expanzie i fenotyp ochorenia. Tsilfidis a spol. (1992) opisujú, že viaceré matky s nepostihnutými deťmi majú repety v rozsahu E0—E1, kým matky s CDM deťmi sú v triedach E1—E3. Vzťah medzi veľkosťou maternálnej alely a klinickým prejavom potvrdili Redman a spol. (1993). V ich práci boli matky s repetmi väčšími ako 100 CTG jednotiek veľmi rizikové pre veľké expanzie (90 %) na viac ako 400 repetových jednotiek u detí (často spojené so závažnou chorobou) a s rizikom 67 % prenosu expanzie viac ako 750 jednotiek (spojené vždy s výskytom CDM). Ak bola dĺžka maternálneho repetu menšia ako 100 CTG jednotiek, pravdepodobnosť prenosu na dieťa klesla na 36 %. V ich prehľade u 30 párov matka—dieťa boli repetové veľkosti CDM od 730 do 4300 CTG repetov. Ak maternálne kópie mali viac ako 1500 repetov, CDM sa nachádzala vo všetkých prípadoch. CDM sa nikdy nepozorovala pri repetoch menších ako 450. Aj keď možno predpovedať presnú klinickú prognózu založenú na expanzii CTG repetov u plodu, tieto údaje slúžia len ako prostriedok na predpovedanie väčšiny prípadov CDM (Pizutti a spol., 1993; Redman a spol., 1993; Tsilfidis a spol., 1992).

Nevysvetlenou ostáva výlučne maternálna dedičnosť CDM. Predpokladá sa, že maternálna dedičnosť súvisí s malou transmisíou počas oogenézy, keď sa najrýchlejšie predlžujú repety, pretože na základe negatívnej selekcie počas spermiogenézy nedochádza k takému významnému predĺženiu (pravdepodobne to súvisí s meiotickou instabilitou, počas ktorej je zreteľná tendencia ku kompresii dĺžky repetov u muža, dĺžka repetov u žien je však variabilná) (Lavedan a spol., 1993; Zheng a spol., 1993).

CDM sa v podstate dedí len po maternálnej línii s prevalenciou u dievčat. Známe sú však i prípady CDM dedenej paternálnou líniou (Bergoffen a spol., 1994; Empanza a Johnson 1993; Nakagawa a spol., 1994). Spravidla sa pri CDM nájde dĺžka repetu u potomkov väčšia ako u rodičov, známe sú však aj prípady CDM so skráteným repetom v porovnaní s rodičovským (Cobo a spol., 1993; O'Hoy a spol., 1993). Thornton a spol. (1993) potvrdili u 3 pacientov z dvoch rodín absenciu expanzie CTG repetov v leukocytoch i svaloch pri klinicky i histologicky overenej DM. U týchto pacientov sa nepotvrdila anticipácia, navyše sa u nich našla výrazná hypertrofia svalstva dolných končatín, čo je bežným nálezom pri nedystrofických myotonických poruchách, nie však pri DM.

Existuje aj pozitívna korelácia medzi dĺžkou repetu a stupňom testikulárneho zlyhania. U postihnutých pacientov sa zisťuje hypogonadizmus s menším objemom testes a zníženým vylučovaním testosterónu. Tento mužský hypogonadizmus je súčasťou DM (Mastrogioacomo a spol., 1994). Mutácia génu DM prejavuje zreteľnú heterogenitu v somatických bunkách (tzv. somatický mozaicizmus). Táto somatická instabilita (CTG)n repetu spôsobuje jeho výraznú tkanivovú variabilitu a predstavuje významný mechanizmus variabilnej pleiotropie. V post mortem vykonaných vyšetreniach sa zistilo, že CTG repety v mozgu, priečne pruhovaných svaloch, myokarde, testes a pečeni sú zreteľne väčšie ako v leukocytoch, čo sa ukázalo ako nedostatok pri korelácii fenotypových prejavov s dĺžkou repetu vyšetovaných leukocytov postihnutých jedincov. Naproti tomu vyšetrenie leukocytov na určenie nosičstva mutovaného génu je dostačujúce (Thornton a spol., 1993). Pri posudzovaní vzťahov medzi dĺžkou repetov a klinickými prejavmi choroby treba preto prihliadať aj na tkanivo, z ktorého sa robí analýza. Dĺžka repetov býva vždy nižšia v leukocytoch ako vo svalovom tkanive, a preto len vyšetrenie tripletovej expanzie vo svaloch sa považuje za spoľahlivý

diagnostický znak DM (Anvert a spol., 1993; Ashizawa a spol., 1993; Thornton a spol., 1993). Kvantifikácia (CTG)n repetu je omnoho citlivejšou metódou na určenie nosičstva ochorenia ako fyzikálne, oftalmologické a elektromyografické vyšetrenie, pretože umožňuje detekciu mutácie už na subklinickej úrovni a dovoľuje určiť stupeň fenotypových prejavov ochorenia (Pizzuti a spol., 1993).

Identifikácia a funkcia MTPK je zatiaľ len v počiatkoch štúdií. Na základe sekvenčnej analýzy génu MTPK boli pripravené peptidické protilátky proti extrahelikalnej i helikalnej časti enzýmu a afinitnou chromatografiou sa získali z rôznych tkanív proteíny MTPK. Takmer vo všetkých tkanivách sa zistil výskyt MTPK, najvyšší obsah sa našiel v priečne pruhovanom svaloch a myokarde, nižší v mozgu. V priečne pruhovaných svaloch i v myokarde sa protilátky viažu na sarkolemu z vnútornej strany membrány a fyzikálnochemická charakteristika extrakcie proteínu z membrány naznačuje, že MTPK je periférnym proteínom sarkolemy (Salvatori a spol., 1994). Tento nález by mohol naznačovať, že MTPK má azda spojitosť s prenosom signálov, keďže je už dávnejšie známe, že svalové bunky pacientov s DM prejavujú zníženú schopnosť fosforylácie proteínov. Ktoré proteíny však MTPK fosforyluje a ako ovplyvňuje funkcie fosforylovaných proteínov, to zatiaľ nevieme (Fischbeck, 1994).

Koga a spol. (1994) a Étougué-Mayer a spol. (1994) zistili, že pacienti s DM majú znížený obsah mRNA MTPK vo svaloch, ako aj znížené kvantá MTPK v porovnaní so zdravými jedincami i s jedincami s ochorením priečne pruhovaného svalstva iného charakteru ako DM, pričom sa u postihnutých osôb zistili veľké rozdiely. Je otázkou, či závažnosť choroby súvisí s variáciami expresie MTPK a či s patológiou génu MTPK, keďže pri individuálnom posudzovaní sa nájdu znížené, ako aj zvýšené hodnoty MTPK (Fischbeck, 1994; Koga a spol., 1994). A tak ostáva vzťah medzi DM a MTPK i naďalej otázkou. Keby bola priama závislosť medzi klinickými prejavmi a poruchou funkcie MTPK, potom by táto mala byť priamo úmerná dĺžke repetu na géne MTPK (Jansen a spol., 1992). To však nie je jednoznačne dokázané, keďže existujú aj prípady DM, overené klinicky a histologicky, bez akýchkoľvek mutácií génu MTPK (Thornton a spol., 1993). Preto sa uvažuje o strate alebo zmene funkcie génového produktu génu MTPK bez jeho kvantitatívnych zmien, alebo o tom, že enzým MTPK pozostáva z neidentických podjednotiek a potom by alterácia jednej podjednotky mohla zmeniť funkciu celého enzýmu. Enzým MTPK v priečne pruhovanom svaloch má molekulovú hmotnosť 53 kD, v myokarde 62 kD a v mozgu sa vyskytujú obe izoformy enzýmu (Koga a spol., 1994).

Kinázová aktivita enzýmu MTPK sa zatiaľ spoľahlivo nedokázala. Prvé výsledky (O'Hoy a spol., 1993) poukazovali na serín-treonín-hydroxyprolín proteinkinázu, keďže sekvencia MTPK je najbližšia proteinkináze A a C (Dunne a spol., 1994). Posledné údaje s purifikovaným enzýmom, izolovaným afinitnou chromatografiou, svedčia však o tyrozínkinázovej aktivite v humánom aj v myšacom svaloch. Až presnejšia identifikácia enzýmu a špecifikácia jeho kinázovej aktivity umožní ozrejmiť úlohu MTPK v patogenéze DM (Étougué-Mayer a spol., 1994). Enzým má autofosforylačnú aktivitu, dosiaľ sa však nedokázala špecifická fosforylácia ani bielkovín membránových receptorov a kanálov, ani cytoskeletu, o ktorých je známe, že sú fosforylované proteinkinázou A a C (Dunne a spol., 1994). A tak sa zdá, že napriek podobnosti primárnej štruktúry sú vlastnosti MTPK odlišné, aj keď by sa na základe štruktúrnej homológie s proteinkinázou A a C dali predpokladať podobné fosforylačné vlastnosti. Pripisovať preto enzýmu špecifické fosforylačné membránových či intraplazmatických proteínov má zatiaľ len teoretický charakter nepodložený dôkazmi.

## Literatúra

- Anvert M., Ahlberg G., Grandel U., Hedberg B., Johnson K., Edstrom L.:** Larger expansions of the CTG repeat in muscle compared to lymphocytes from patients with myotonic dystrophy. *Human. Molec. Genet.*, 2, 1993, s. 1397—1400.
- Ashizawa T., Dubel J.R., Harati Y.:** Somatic instability of CTG repeat in myotonic dystrophy. *Neurology*, 43, 1993, s. 2674—2678.
- Ashizawa T., Dunne P.W., Ward P.A., Seltzer W.K., Richards C.S.:** Effects of the sex of myotonic dystrophy patients on the unstable triplet repeat in their affected offspring. *Neurology*, 44, 1994, s. 120—122.
- Ashizawa T., Hejtmancik J. F.:** Myotonic dystrophy. *Curr. Neurol.*, 10, 1990, s. 27—62.
- Bergoffen J.O., Kant J., Sladky J., McDonald – McGinn D., Zackai E.H., Fischbeck K.H.:** Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. *J. Med. Genet.*, 31, 1994, s. 518—520.
- Brook J.D., McCurrach M., Harley H.G.:** Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell*, 68, 1992, s. 799—808.
- Brunner H. G., Bruggenwirth H.T., Nillesen W., Jansen G., Hamel B.C., Hoppe R.L., de Die C.E., Howeler C.J., van Oost B.A., Wieringa B.:** Influence of sex of the transmitting parent as well as of parental allele size on the CTG expansion in myotonic dystrophy (DM). *Amer. J. Hum. Genet.*, 53, 1993, s. 1016—1023.
- Buxton J., Shelbourne P., Davies J., Jones C., van Tongeren T., Ashamidis C., de Jong P., Jansen G., Anvret M., Riley B., Williamson R., Johnson K.:** Detection of an unstable fragment of DNA specific to individuals with myotonic dystrophy. *Nature*, 355, 1992, s. 547—548.
- Caskey C.T., Pizzuti A., Fu Y.H., Fenwick R.G., Nelson D.L.:** Triplet repeat mutations in human disease. *Science*, 256, 1992, s. 784—789.
- Cobo A.M., Baiget A., Lopez de Manain A., Toza J.J., Emparanza J.J., Johnson K.:** Sex related difference in intergenerational expansion of myotonic dystrophy gene. *Lancet*, 341, 1993, s. 1159—1160.
- Dunne P.W., Walch E.T., Epstein H.F.:** Phosphorylation reactions of recombinant human myotonic protein kinase and their inhibition. *Biochemistry*, 33, 1994, s. 10809—10814.
- Emparanza J.J., Johnson K.:** Sex-related difference in intergenerational expansion of myotonic dystrophy gene. *Lancet*, 341, 1993, s. 1159—1160.
- Étongué-Mayer P., Faure R., Bouchard J.P., Thibault M.C., Tuymirat J.:** The myotonin-protein kinase phosphorylates tyrosine residues in normal human skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 199, 1994, s. 89—93.
- Fischbeck K.H.:** Mechanisms of myotonic dystrophy. *Ann. Neurol.*, 35, 1994, s. 255—266.
- Franke C., Hatt H., Iaizzo P.A., Lehman-Horn M.:** Characteristics of Na<sup>+</sup> channels and Cl<sup>-</sup> conductance in resealed muscle fibre segment from patients with myotonic dystrophy. *J. Physiol. (Lond.)*, 425, 1990, s. 391—405.
- Fu Y.H., Friedman D.L., Richards S.:** Decreased expression of myotonin-protein kinase messenger RNA and protein in adult form of myotonic dystrophy. *Science*, 260, 1993, s. 235—238.
- Giordano M., De Angelis M.S., Mutani R., Ricciardi P.M.:** Origin of a recessed myotonic dystrophy allele. *J. Med. Genet.*, 31, 1994, s. 130—132.
- Harley H.G., Rundle S.A., MacMillan J.C., Myring J., Brook J.D., Crow S., Reardon W., Fenton I., Shaw D.J., Harper P.S.:** Size of the unstable CTG repeat sequence in relation to phenotype and parental transmission in myotonic dystrophy. *Amer. J. Hum. Genet.*, 52, 1993, s. 1164—1174.
- Jansen G., Mahadevan M., Amemiya C.:** Characterization of the myotonic dystrophy region predicts multiple protein isoform — encoding mRNAs. *Nature Genet.*, 1, 1992, s. 261—266.
- Koga R., Nakao Y., Kurano Y., Tsukahara T., Nakamura A., Ishiura S., Nonaka I., Arahata K.:** Decreased myotonin – protein kinase in the skeletal and cardiac muscles in myotonic dystrophy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 202, 1994, s. 577—585.
- Kunkel T.A.:** Shippery DNA and diseases. *Nature*, 365, 1993, s. 207—208.
- Lavedan C., Hofmann R.H., Shelbourne P., Rabes J. P., Duros C., Savoy D., Dehaupas I., Luce S., Johnson K., Junien C.:** Myotonic dystrophy: size- and sex-dependent dynamics of CTG meiotic instability, and somatic mosaicism. *Amer. J. Hum. Genet.*, 52, 1993 a, s. 875—883.
- Lavedan C., Hofmann-Radvanyi A., Rabes J.P., Roume J., Junien C.:** Different sex-dependent constraints in CTG length variation as explanation for congenital myotonic dystrophy. *Lancet*, 341, 1993 b, s. 237.
- Mahadevan S.M., Amemiya C., Jansen G.:** Structure and genomic sequence of the myotonic dystrophy (DM kinase) gene. *Hum. Mol. Genet.*, 2, 1993, s. 299—304.
- Mastrogiacomo I., Pagani E., Novelli G., Angelini C., Gennarelli M., Menegazzo E., Bonanni G., Dallapiscola B.:** Male hypogonadism in myotonic dystrophy is related to (CTG)<sub>n</sub> triplet mutation. *J. Endocrinol. Invest.*, 17, 1994, s. 381—383.
- Nakagawa M., Yamada H., Higuchi I., Kaminishi Y., Miki T., Johnson K., Osame M.:** A case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy. *J. Med. Genet.*, 31, 1994, s. 397—400.
- O'Hoy K.L., Tsilfidis C., Mahadevan M.S., Neville C.E., Barcelo J., Hunter A.G., Korneluk R.G.:** Reduction in size of the myotonic dystrophy trinucleotide repeat mutation during transmission. *Science*, 259, 1993, s. 809—812.
- Pizzuti A., Friedman D.L., Caskey C.T.:** The myotonic dystrophy gene. *Arch. Neurol.*, 50, 1993, s. 1173—1179.
- Redman J.B., Fenwick R.G., Fu H.Y., Pizzuti A., Caskey C.T.:** Relationship between parental trinucleotide GCT repeat length and severity of myotonic dystrophy in offsprings. *J. Amer. med. Ass.*, 269, 1993, s. 1960—1965.
- Salvatori S., Birai D., Furlan S., Marin O.:** Identification and localization of the myotonic dystrophy gene product in skeletal and cardiac muscles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 203, 1994, s. 1365—1370.
- Shaw D.J., Chaudhari S., Rundle S.A., Crow S., Brook J.D., Harper P.S., Harley H.G.:** A study of DNA methylation in myotonic dystrophy. *J. Med. Genet.*, 30, 1993, s. 189—192.
- Thornton G.A., Grigs R.C., Moxley R.T.:** Myotonic dystrophy with no trinucleotide repeat expansion. *Ann. Neurol.*, 35, 1993, s. 269—272.
- Thornton C.A., Johnson K., Moxley R.T.:** Myotonic dystrophy patients have larger CTG expansions in skeletal muscle than in leukocytes. *Ann. Neurol.*, 35, 1994, s. 104—107.
- Tsilfidis C., MacKenzie A.E., Mettler G., Barcelo J., Korneluk R.G.:** Correlation between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. *Nature Genet.*, 1, 1992, s. 192—195.
- Zheng C.J., Byers B., Moolgavkar S.H.:** Allelic instability in mitosis: a unified model for dominant disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90, 1993, s. 10178—10182.