

Artykuły oryginalne • Original articles

**Nosicielstwo mutacji w eksonie 6 genu *NBS1*
a ryzyko zachorowania na mięśniaki macicy**

Dorota Czapczak¹, Anna Markowska², Magdalena Piątkowska¹,
Zbigniew Friebe³, Andrzej Polaszewski⁴, Magdalena Chechlińska⁵,
Janina Markowska⁶, Anna Kluska¹, Jan Steffen⁵

Cel pracy. Zespół Nijmegen (nijmegen breakage syndrome – NBS) jest rzadkim schorzeniem genetycznym, zaliczanym do grupy chorób związanych z nadmierną łamliwością chromosomów, uwarunkowanym homozygotycznymi mutacjami w genie *NBS1*. Gen ten koduje nibrynę – białko biorące udział w naprawie podwójnych pęknięć DNA. U chorych na NBS notuje się wysoką częstość zachorowań na nowotwory, a heterozygotyczni nosiciele mutacji w genie *NBS1* są obciążeni zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory. Mięśniaki macicy są łagodnym rozrostem mięśniówki. Ich częstsze występowanie u krewnych pierwszego stopnia sugeruje podłoże genetyczne tej choroby. Aberracje chromosomowe występujące w mięśniakach macicy dotyczą m.in. chromosomów 7 i 14, ulegających aberracjom również w zespole NBS. Celem badań było określenie, czy nosicielstwo mutacji genu *NBS1* wpływa na ryzyko rozwoju mięśniaków macicy.

Materiał i metody. Materiał badawczy stanowiły próbki krwi od 570 chorych na mięśniaki macicy oraz od 1 000 noworodków pochodzących z woj. wielkopolskiego. Za pomocą DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography) oraz sekwencjonowania oznaczano nosicielstwo mutacji 657del5, R215W, V210F i G224E w eksonie 6 genu *NBS1*. Częstość mutacji genu *NBS1* analizowano testem χ^2 oraz testem Fishera.

Wyniki. Częstość nosicielstwa badanych mutacji w eksonie 6 genu *NBS1* w grupie chorych na mięśniaki macicy wynosiła 0,014, a w populacji kontrolnej 0,013. Mutacja R215W wyróżniała się ponad 3-krotnie częstszym występowaniem w grupie chorych na mięśniaki niż w populacji ogólnej. Znalezione różnice nie wykazywały znamienności statystycznej.

Wniosek. Nosicielstwo mutacji 657del5, R215W, V210F i G224E w eksonie 6 genu *NBS1* nie ma istotnego związku z ryzykiem rozwoju mięśniaków macicy.

**Heterozygous germline mutations in the exon 6 of the *NBS1* gene
and the risk of uterine myoma**

Aim. Nijmegen breakage syndrome (NBS) is a rare autosomal recessive condition of chromosomal instability, caused by mutations in the *NBS1* gene. The *NBS1* product, nibrin, is involved in double-strand break DNA repair. Patients with NBS have high incidence rate of cancer. Heterozygotic carriers of *NBS1* mutations are at increased risk of developing cancer. Uterine myomas are common, benign tumors of the smooth muscle cells of the myometrium. Uterine myomas are often found in family members of the patient. These benign tumours have been linked with chromosomal abnormalities, including chromosomes 7 and 14 affected in the NBS patients. We aimed to study the influence of heterozygous *NBS1* mutations on the risk of developing uterine myomas.

Material and methods. The heterozygous mutations in the exon 6 of the *NBS1* gene, 657del5, R215W, V210F and G224E, were assessed by DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography) and sequencing in 570 patients

¹ Pracownia Badań Predyspozycji Genetycznych
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
w Warszawie

² Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych

³ Klinika Ginekologii Katedry Ginekologii i Położnictwa
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

⁴ Oddział Ginekologii
Szpital Wojewódzki w Poznaniu

⁵ Zakład Immunologii
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
w Warszawie

⁶ Oddział Ginekologii Katedry Onkologii
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

with uterine myomas and in the geographically matched population control group of 1000 blood samples from newborns. The χ^2 and Fisher tests were employed for the statistical analyses.

Results. The carrier frequencies in patients with myoma and in the control population were 0.014 and 0.013, respectively. The R215W mutation was most frequent among myoma patients, and 3-times more frequent than in the control population. However, none of the differences in frequencies reached statistical significance.

Conclusion. Mutations in the exon 6 of the *NBS1* gene, 57del5, R215W, V210F and G224E, seem not to predispose to uterine myoma.

Słowa kluczowe: mutacje *NBS1*, mięśniaki macicy

Key words: *NBS1* gene mutations, uterine myoma

Wstęp

Zespół Nijmegen (*nijmegen breakage syndrome* – NBS) jest rzadkim schorzeniem genetycznym, dziedzicznym w sposób autosomalny recesywny, zaliczonym do grupy chorób związanych z nadmierną łamliwością chromosomów [1]. Występowanie tego zespołu jest wynikiem homozygotycznych mutacji w genie *NBS1* [2]. Chorzy na NBS charakteryzują się zmianami fenotypowymi, m.in.: małą głową, nietypową budową czaszki, pierwotnym niedoborem wzrostu, a także zaburzeniami odporności, niestabilnością chromosomową, nadwrażliwością na promieniowanie jonizujące i cytostatyki o działaniu radiomimetycznym oraz zwiększoną zapadalnością na nowotwory. Zachorowania na nowotwory, najczęściej na białaczkę i chłoniaki, obserwuje się u chorych na NBS już przed 21 r.ż. [3, 4]. Terapię przeciwnowotworową komplikuje zwiększona wrażliwość chorych na działanie promieniowania jonizującego i chemioterapeutyki, które indukują pęknięcia podwójnej nici DNA [5]. Choroby nowotworowe są główną przyczyną zgonów chorych z zespołem Nijmegen.

Ponad 90% chorych na NBS ma homozygotyczną mutację 657del5 w genie *NBS1*, zwaną mutacją słowiańską, ponieważ najwięcej chorych pochodzi z Europy Środkowo-Wschodniej. Gen *NBS1* (inaczej: *NBN od ang. Nijmegen Breakage Nibrin*), zlokalizowany w długim ramieniu chromosomu 8, w locus 21.3 (8q21.3), koduje nibrinę – białko wchodzące w skład kompleksu biorącego udział w naprawie podwójnych pęknięć DNA, najbardziej szkodliwych uszkodzeń DNA, skutkujących aberracjami chromosomowymi i rearanżacjami chromosomów, prowadzącymi do śmierci komórki lub do transformacji nowotworowej [6-8]. Naprawa podwójnych pęknięć DNA z udziałem nibriny zachodzi na drodze homologicznej rekombinacji (HR – *homologous recombination*) lub niehomologicznego łączenia końców (NHEJ – *non-homologous end joining*) [9, 10]. Nibrina odgrywa również rolę w normalnych procesach rekombinacji genetycznej w układzie odpornościowym i w gonadach oraz w stabilizacji telomerów i aktywacji genów kontrolujących apoptozę i cykl komórkowy [11, 12].

Recesywny charakter dziedziczenia zespołów niestabilności chromosomowych nie wyklucza występowania pewnych dysfunkcji w naprawie uszkodzonego DNA i regulacji cyklu komórkowego u heterozygotycznych nosicieli defektów genowych; dysfunkcje te mogą pro-

wadzić do karcynogenezy [13-15]. Heterozygotycznych mutacji genu *NBS1* poszukiwano początkowo wśród chorych na chłoniaki i białaczkę, ponieważ na te nowotwory najczęściej zapadali chorzy z zespołem Nijmegen i ich krewni [3, 16-20]. Seemanova i wsp., na podstawie badań rodzin chorych na zespół Nijmegen, wysunęli hipotezę, że heterozygotyczni nosiciele nieznaną wówczas mutacji mają w wieku dojrzałym podwyższone ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe, zwłaszcza przewodu pokarmowego i narządu rodowego [21]. Obserwowano wzrost zachorowań na nowotwory wśród heterozygotycznych nosicieli mutacji 657del5, będących krewnymi chorych na zespół Nijmegen [21-23]. Dalsze badania własne i badania innych grup wykazały, że nosiciele mutacji 657del5 są obciążeni kilkakrotnie zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka piersi, czerniaka, chłoniaki nieziarnicze, raka prostaty oraz ostrą białaczkę limfoblastyczną (*acute lymphoblastic leukaemia* – ALL), a nosiciele mutacji R215W mają zwiększone ryzyko zachorowania na raka jelita grubego [24-28]. Steffen i Siwicki [13] zaproponowali oszacowanie częstości nosicielstwa mutacji genu *NBS1* wśród chorych na nowotwory w różnych umiejscowieniach i w populacji ogólnej.

Analizując fenotypy nosicielek mutacji genu *NBS1* chorych na raka piersi i/lub jajnika, zwróciliśmy uwagę na częste występowanie u tych chorych mięśniaków macicy.

Wśród chorych z zespołem Nijmegen nie notowano zachorowań na mięśniaki macicy, jednak chorzy ci często umierają w młodym wieku, a mięśniaki macicy występują głównie powyżej 30. roku życia.

Mięśniaki macicy, które są monoklonalnymi nowotworami, powstają z mięśni gładkich mioblastu lub ściany naczynia *myometrium* [29, 30]. Szacuje się, że występują one u około 20-30% kobiet powyżej 30 roku życia. Badania mięśniaków w rodzinach wskazały na ich częstsze występowanie u krewnych pierwszego stopnia [31]. W części mięśniaków macicy, podobnie jak w przypadku wielu innych zmian łagodnych, obserwuje się aberracje chromosomowe. Rearanżacje chromosomowe występujące w mięśniakach macicy dotyczą chromosomów 7 i 14, tak jak w zespole NBS, oraz chromosomów 1, 2, 6 i 12 [32-36].

Celem naszych badań było określenie, czy nosicielstwo mutacji genu *NBS1* wpływa na ryzyko rozwoju mięśniaków macicy.

Materiał

U chorych na mięśniaki macicy i w populacji kontrolnej, tj. populacji Wielkopolski, poszukiwano najczęstszej w Polsce, zarodkowej mutacji 657del5, która występuje w eksonie 6 genu *NBS1*. W tym samym eksonie oznaczano również następujące rzadkie mutacje: R215W, V210F i G224E.

Chore

Badaniami objęto 570 kobiet, u których zdiagnozowano mięśniaki macicy (wiek: 19-76 lat, mediana 45 lat) w Klinikach Perinatologii i Chorób Kobięcych oraz Ginekologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w Oddziale Ginekologii Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu oraz w Oddziale Ginekologii Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Chore nie były selekcjonowane ze względu na typ, liczbę i wielkość mięśniaków oraz wiek zachorowania. Materiał do badań stanowiły próbki krwi w postaci wysuszonych plam na bibułkach Guthriego. Wszystkie chore, u których wykonano badania genu *NBS1*, wyraziły na to pisemną zgodę.

Populacja kontrolna

Badaniami objęto populację województwa wielkopolskiego (n=1000). Materiał do badań stanowiły anonimowe próbki krwi noworodków, uzyskiwane w postaci wysuszonych plam na bibułkach Guthriego, pozostałe po obowiązkowych badaniach populacyjnych ukierunkowanych na wykrywanie fenyloketonurii. Liczbę próbek w obrębie 19 powiatów województwa wielkopolskiego dobierano w proporcji do liczby urodzeń.

Metody

Genomowe DNA izolowano z wysuszonych plam krwi na bibułkach Guthriego przy użyciu zestawu „Genomic Mini AX kit” (A&A Biotechnology, Gdańsk, Poland). Do poszukiwania mutacji genu *NBS1* zastosowano następujące techniki: denaturującą wysokociśnieniową chromatografię cieczową (DHPLC – *denaturing high-performance liquid chromatography*) oraz sekwencjonowanie.

Genomowe DNA amplifikowano używając następujących starterów:

F: 5'-CAGATAGTCACTCCGTTTACAA-3' n=22

R: 5'-ATGAATAGGCCAGTTATCACAG-3' n=22

Reakcje PCR prowadzono w termocyklarach Applied Biosystems w następujących warunkach: 94°C – 10 min. (94°C – 30 sek, 58°C – 30 sek, 72°C – 30 sek) x35, 72°C – 7 min., 4°C – ∞. W wyniku reakcji powstawał produkt o długości 406 pz, obejmujący poza sekwencją eksonu 6 także przylegające sekwencje intronowe. DHPLC wykonywano w aparacie firmy Transgenomic Inc. Badane próbki (nieoczyszczony produkt PCR) poddawano elucji w liniowym gradiencie acetonitrylu (czynnik denaturujący). Gradient acetonitrylu, temperaturę i czas rozdziału dobierano przy pomocy programu komputerowego firmy Transgenomic Inc. Każdą badaną próbkę porównywano z kontrolą pozytywną i negatywną. Próbkę wykazującą profil odmienny niż kontrola negatywna sekwencjonowano.

DNA zamplifikowane w reakcji PCR, po oczyszczeniu na kolumnach Centricon-100 (Millipore), sekwencjonowano przy pomocy zestawów BigDye@Terminator v3.1 Cycle (Applied Biosystems). Sekwencjonowanie prowadzono w termocyklarach Applied Biosystems w następujących warunkach: 95°C – 2 min., (95° – 10 sek, 58°C – 5 sek, 60°C – 4 min.) x 28 cykli, 4°C – ∞. Produkty sekwencjonowania oczyszczano (octan sodu pH 4,8, 96% etanol; 1:25) i poddawano elektroforezie w 5% denaturującym żelu poliakrylamidowym (Panalytica). Elektroforezę

prowadzono w aparacie ABI Prism 377 (Applied Biosystems) przy napięciu 2,4 kV – 6 godzin.

Analiza statystyczna

Do analizy częstości mutacji genu *NBS1* zastosowano testy: χ^2 i Fisher'a.

Wyniki i dyskusja

Przedmiotem badań była częstość nosicielstwa heterozygotycznych mutacji genu *NBS1* u chorych na mięśniaki macicy na tle populacji ogólnej tego samego regionu geograficznego, tj. populacji Wielkopolski.

Tab. I. Nosicielstwo mutacji w eksonie 6 genu *NBS1* u chorych na mięśniaki macicy i w populacji województwa wielkopolskiego

Mutacja	Chore (%)	Populacja (%)	OR (95% CI)	p
657del5	2/570 (0,3)	10/1000 (1,0)	0,35 (0,08-1,58)	0,2586
R215W	4/570 (0,7)	2/1000 (0,2)	3,50 (0,64-19,18)	0,2649
V210F	1/570 (0,2)	1/1000 (0,1)	1,74 (0,11-27,93)	0,7360
G224E	1/570 (0,2)	0/1000		
Łącznie	8/570 (1,4)	13/1000 (1,3)	1,07 (0,44-2,60)	0,8760

W grupie 570 kobiet, u których zdiagnozowano mięśniaki macicy, wykryto łącznie 8 nosicielek mutacji w eksonie 6 genu *NBS1* (Tab. I). Chore, u których wykryto mutację „słowiańską” 657del5, miały rozpoznane mięśniaki w wieku 38 i 45 lat, chore z mutacją R215W – w wieku 29, 47, 48 i 53 lat, chora będąca nosicielką mutacji V210F – w wieku 51 lat, a chora z mutacją G224E – w wieku 35 lat.

Mutacja 657del5, zwana „mutacją słowiańską” (ze względu na wysoką częstość jej występowania w populacji polskiej, czeskiej i ukraińskiej), jest najczęściej wykrywaną mutacją genu *NBS1* u chorych z zespołem Nijmegen (ponad 90% przypadków), u chorych na nowotwory złośliwe oraz w populacji ogólnej. W wyniku tej mutacji dochodzi do przedwczesnej terminacji translacji i powstania białka „kadłubowego” p.fsX234. W badaniach *in vitro* w komórkach od chorych z zespołem NBS stwierdzono obecność dwóch nieprawidłowych białek, z których jedno występuje zarówno w komórkach od chorych z zespołem NBS, jak również w komórkach heterozygotycznych nosicieli mutacji 657del5 [37].

Mutacja punktowa R215W (ok. 1% chorych na NBS), została po raz pierwszy opisana przez Varon i wsp., którzy znaleźli ją u chorego na ALL [18]. Mutacja R215W przez długi czas była określana jako zmiana polimorficzna. Seemanová i wsp. [38] zmienili ten pogląd, opisując ciężką postać zespołu NBS u bliźniąt monozygotycznych, u których mutacje R215W/657del5 występowały w układzie heterozygotycznym. Badania przeprowadzone w Polsce, Niemczech, Czechach, Wielkiej Brytanii i Fin-

landii wykazały, że nosiciele mutacji mają podwyższone ryzyko zachorowania na raka jelita grubego, raka piersi, NHL, białaczki i raka prostaty [18, 19, 24, 39].

Mutacja punktowa V210F prowadzi do zamiany aminokwasu alifatycznego, obojętnego na aromatyczny. Mutacji tej nie obserwowano u chorych z zespołem NBS, zidentyfikowano ją u Niemca chorego na ostrą białaczkę limfoblastyczną [18], u Amerykanina chorego na chłoniaka nieziarnicznego [16] oraz u chorych na czerniaka w populacji niemieckiej [40]. W populacji polskiej mutację tę znaleziono u chorej na raka piersi [26] oraz u chorych na ALL [41].

Mutacja G224E została przez nas wykryta w badaniach nosicielstwa mutacji w eksonie 6 genu *NBS1* u chorych na nowotwory złośliwe (dane nieopublikowane). Ze względu na lokalizację tej zmiany w obrębie domeny BRCT II nibryny przypuszczamy, że zamiana aminokwasu obojętnego na kwaśny wpływa na konformację białka i mutacja ta może być patogenna.

W reprezentatywnej grupie populacji województwa wielkopolskiego (n=1 000) wykryto łącznie 13 nosicieli mutacji w eksonie 6 genu *NBS1*. Najlicniejszą grupę stanowili nosiciele mutacji 657del5, nie znaleziono natomiast żadnego nosiciela mutacji G224E.

Analiza częstości nosicielstwa mutacji genu *NBS1* u kobiet chorych na mięśniaki macicy na tle populacji ogólnej nie wykazała różnic znamienych statystycznie (Tab. I). Niska częstość mutacji nie pozwoliła na poszukiwanie związku z wiekiem zachorowania. Zwraca jednak uwagę mutacja R215W, która występuje ponad 3-krotnie częściej w grupie chorych na mięśniaki (częstość=0,007) niż w populacji ogólnej (częstość=0,002).

Reasumując, wydaje się, że nosicielstwo mutacji 657del5, R215W, V210F lub G224E, zlokalizowanych w eksonie 6 genu *NBS1*, nie wpływa na ryzyko rozwoju mięśniaków macicy. Nie można jednak wykluczyć, że mutacje genu *NBS1*, a zwłaszcza R215W, zwiększają ryzyko rozwoju mięśniaków macicy określonego typu. Szczególnie interesująca mogłaby być analiza nosicielstwa mutacji w kontekście niedostępnych w tym badaniu wyników badań cytogenetycznych. Można bowiem przypuszczać, że niektóre aberracje chromosomowe, opisywane w przypadku mięśniaków macicy, mogą mieć związek z mutacjami zarodkowymi lub zmianami polimorficznymi w genach odpowiedzialnych za naprawę podwójnych pęknięć DNA.

Dr hab. n. med. Anna Markowska

Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
ul. Polna 33
60-535 Poznań
e-mail: annamarkowska@vp.pl

Piśmiennictwo

- Weemaes CM, Hustinx TW, Scheres JM i wsp. A new chromosomal instability disorder: the Nijmegen breakage syndrome. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70: 557-64.
- Varon R, Vissinga C, Platzer M i wsp. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen Breakage Syndrome. *Cell* 1998; 93: 467-76.
- The International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group. Nijmegen Breakage Syndrome. *Arch Dis Child* 2000; 82: 400-6.
- Eyford JE and Bodvarsdottir SK. Genomic instability and cancer: Networks involved in response to DNA damage. *Mutat Res* 2005; 592: 18-28.
- Seidemann K, Henze G, Beck JD i wsp. Non Hodgkin's lymphoma in pediatric patients with chromosomal breakage syndromes (AT and NBS): experience from the BFM trials. *Ann Oncol* 2000; 11:141-5.
- Matsuura S, Weemaes C, Smeets D i wsp. Genetic mapping using microcell-mediated chromosome transfer suggests a locus for Nijmegen breakage syndrome at chromosome 8q21-24. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 1487-94.
- Carney JP, Maser RS, Olivares H i wsp. The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. *Cell* 1998; 93: 477-86.
- Varon R, Vissinga C, Platzer M i wsp. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen Breakage Syndrome. *Cell* 1998; 93: 467-76.
- D'Amours D, Jackson SP. The Mre11 complex: at the crossroads of DNA repair and checkpoint signaling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 317-27.
- Takata M, Sasaki MS, Sonoda E i wsp. Homologous recombination and nonhomologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. *EMBO J* 1998; 17: 5497-508.
- Lombard DB, Guarente L. Nijmegen Breakage Syndrome disease protein and MRE11 at PML nuclear bodies and meiotic telomeres. *Cancer Res* 2000; 60: 2331-4.
- D'Amours D, Jackson SP. The yeast Xrs2 complex functions in S phase checkpoint regulation. *Genes Dev* 2001; 15: 2238-49.
- Steffen J, Siwicki JK. Molekularna patogeneza zespołu Nijmegen. Implikacje dla postępu wiedzy o mechanizmach rozwoju nowotworów na podłożu defektów łączenia dwuniciowych pęknięć DNA. *Nowotwory J Oncol* 2000; 50: 507-14.
- Tauchi H, Matsuura S, Kobayashi J i wsp. Nijmegen breakage syndrome gene, NBS1, and molecular links to factors for genome stability. *Oncogene* 2002; 21: 8967-80.
- Mosor M, Januszkiewicz-Lewandowska D. Podłoże molekularne Zespołu Nijmegen. *Post Biol Kom* 2004; 31: 631-45.
- Cerosaletti KM, Morrison VA, Sabath DE i wsp. Mutation of the *NBS1* Gene in Non-Hodgkin Lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 35: 282-6.
- Stanulla M, Stümm M, Dieckvoss BO i wsp. A. No evidence for a major role of heterozygous deletion 657del5 within the NBS1 gene in the pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma of childhood and adolescence. *Br J Haematol* 2000; 109: 117-20.
- Varon R, Reis A, Henze G i wsp. Mutations in the Nijmegen Breakage Syndrome gene (NBS1) in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Cancer Res* 2001; 61: 3570-2.
- Taylor GM, O'Brien HP, Greaves MF i wsp. Correspondence re: Varon R, et al. Mutation in the Nijmegen breakage syndrome gene (NBS1) in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 2001; 61: 3570-3572, *Cancer Res* 2003; 63: 6563-4.
- Resnick I, Kondratenko I, Pashanov E i wsp. 657del5 mutation in the gene for Nijmegen breakage syndrome (NBS1) in a cohort of Russian children with lymphoid tissue malignancies and controls. *Ann Hum Genet* 2002; 66: 353-9.
- Seemanova E. An increased risk for malignant neoplasms in heterozygotes for a syndrome of microcephaly, normal intelligence, growth retardation, remarkable faces, immunodeficiency and chromosome al instability. *Mutat Res* 1990; 238: 321-4.
- Digweed M, Sperling K. Nijmegen breakage syndrome: clinical manifestation of defective response to DNA double strand breaks. *DNA Repair* 2004; 3: 1207-17.
- Seemanova E, Jarolim P, Seeman P i wsp. Cancer risk of heterozygotes with the *NBN* founder mutation. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1875-80.
- Steffen J, Varon R, Mosor M i wsp. Increased cancer risk of heterozygotes with NBS1 germline mutations in Poland. *Int J Cancer* 2004; 111: 67-71.

25. Steffen J, Maneva G, Popławska L i wsp. Increased risk of gastrointestinal lymphoma in carriers of 657del5 NBS1 gene mutation. *Int J Cancer* 2006; 119: 2970-3.
26. Steffen J, Nowakowska D, Niwińska A i wsp. Germline mutation 657del5 of NBS1 gene contributes significantly to the incidence of breast cancer in Central Poland. *Int J Cancer* 2006; 119: 472-5.
27. Chrzanowska K, Piekutowska-Abramczuk D, Popowska E i wsp. J. Carrier frequency of mutation 657del5 of NBS1 gene in a population of Polish pediatric patients with sporadic lymphoid malignancies. *Int J Cancer* 2006; 118: 1269-74.
28. Cybulski C, Górski B, Dębniak T i wsp. NBS1 is a prostate cancer susceptibility gene. *Cancer Res* 2004; 64: 1215-9.
29. Andersen J. Growth factors and cytokines in uterine leiomyomas. *Semin Reprod Endocrinol* 1996; 14: 269-82.
30. Tsbiris JCM, Segars J, Coppola D i wsp. Insights from gene arrays on the developmental and growth regulation of uterine leiomyoma. *Fertil Steril* 2002; 78: 114-21.
31. Stewart EA, Morton CC. The genetics of uterine leiomyomata: what clinicians need to know. *Obstet Gynecol* 2008; 107: 917-21.
32. Ligon AH, Morton CC. Leiomyomata: heritability and cytogenetic studies. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 8-14.
33. Van Rijk A, Sweers M, Huys E i wsp. Characterization of a recurrent t (1;2)(p36;p24) in human uterine leiomyoma. *Cancer Gene Cytogenet* 2009; 193: 54-62.
34. Fedele L, Parazzini F, Luchini L i wsp. Recurrence of fibroids after myomectomy: a transvaginal ultrasonographic study. *Hum Reprod* 1995; 10: 1795-6.
35. Stumm M, Neubauer S, Keindorff S i wsp. High frequency of spontaneous translocations revealed by FISH in cells from patients with the cancer-prone syndromes ataxia teleangiectasia and Nijmegen breakage syndrome. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 92: 186-91.
36. Hustinx TW, Scheres JM, Weemaes CM i wsp. Karyotype instability with multiple 7/14 and 7/7 rearrangements. *Hum Genet* 1979; 49: 199-208.
37. Maser RS, Zinkel R, Petrini JH. An alternative mode of translation permits production of a variant NBS 1 protein from the common Nijmegen breakage syndrome allele. *Nat Genet* 2001; 27: 417-21.
38. Seemanová E, Sperling K, Neitzel H i wsp. Nijmegen breakage syndrome (NBS) with neurological abnormalities and without chromosomal instability. *J Med Genet* 2006; 43: 218-24.
39. Hebringer S, Fredriksson H, White K i wsp. Role of the Nijmegen breakage syndrome 1 gene in familial and sporadic prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 935-8.
40. Meyer P, Stapelmann H, Frank B i wsp. Molecular genetic analysis of NBS1 in German melanoma patients. *Melanoma Res* 2007; 17: 109-16.
41. Mosor M, Ziolkowska I, Pernak-Schwarz M i wsp. Association of the heterozygous germline 1171V mutation of the NBS1 gene with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2006; 20: 1454-6.

Otrzymano: 22 czerwca 2010 r.

Przyjęto do druku: 9 września 2010 r.