

ЧАСТОТА СИНДРОМУ НІЙМЕГЕН У ЛЬВІВСЬКІЙ ОБЛАСТІ УКРАЇНИ

Н.В. Маркевич

Інститут спадкової патології АМН України (Львів)

Вступ

Синдром Ніймеген або NBS (Nijmegen Breakage Syndrome, NBS; OMIM 251260), також відомий як синдром Ніймеген-Семанової, це аутосомно-рецесивне захворювання, для якого притаманні вроджена мікроцефалія, помірний дизморфізм обличчя, затримка росту і фізичного розвитку, комбінований Т/В імунodefіцит, рецидивуючі респіраторні захворювання, хромосомна нестабільність, висока чутливість до іонізуючої радіації та підвищена схильність до розвитку лімфоретикулярних пухлин [1-3].

Розвиток синдрому Ніймеген пов'язаний з мутантними змінами гена NBS1 [4]. Ген NBS1 кодує білок p95/нібрин, який забезпечує зупинку циклу в клітинах з нестабільним геномом, детекцію і репарацію дволанцюгових розривів ДНК, виживання клітин після оксидативного та алкілюючого стресу, індукцію апоптозу, ефективну мейотичну рекомбінацію, збереження теломерних ділянок хромосом, проліферацію і диференціацію нейронів в ранньому онтогенезі [5-9].

Прогноз синдрому Ніймеген є несприятливим. Більшість хворих гинуть від лімфопроліферативних захворювань або інфекційних ускладнень вродженого імунodefіциту до пубертатного віку [1-3, 10-14]. Найбільш частим є розвиток дифузної великоклітинної В-лімфоми та Т-клітинної лімфобластної лейкемії [10]. Через підвищену чутливість до іонізуючої радіації пацієнти з NBS потребують застосування ядерно-магнітного резонансу замість рентгенівського обстеження, а також особливих схем радіо- та хіміотерапії пухлин [1, 11-14].

Гетерозиготні носії мутації мутації 657del5 гена NBS1 є практично здорові, проте відзначаються підвищеною чутливістю до іонізуючої радіації та схильністю до розвитку пухлин:

раку молочної залози, негоджкієських злоякісних лімфом, (особливо гастроінтестинальних), меланоми, гострої лімфобластної лейкемії та ін. [15-21]. Отже медико-соціальне значення раннього виявлення носіїв мутацій гена NBS1 полягає у профілактиці пухлинних захворювань в популяції.

На даний час у світі діагностовано біля 200 випадків синдрому Ніймеген, причому 95% пацієнтів виявились слов'янського походження і гомозиготними носіями мутації 657del5 у шостої екзоні гена NBS1, яка через це отримала назву "слов'янської" [1-4]. Такий генетичний консерватизм NBS значно полегшує пре- і постнатальну молекулярно-генетичну верифікацію діагнозу. У 2000 р. були опубліковані результати міжнародного наукового проекту з дослідження поширеності типової мутації гена NBS1 у трьох слов'янських популяціях: чеській, польській та українській (львівській) [22]. За результатами дослідження 4608 бланк-тестів Гатрі від новонароджених було виявлено 23 гетерозиготних носії мутації 657del5 гена NBS1. При середній поширеності 1/200 новонароджених, найвища частота гетерозигот виявилась у Чехії (1/154), найнижча - у Польщі (1/253), а Галичина обійняла проміжне місце (1/182), яке дозволяло припускати поширеність синдрому Ніймеген у 1 на 133000 новонароджених [22]. Згодом, з'явилися публікації, які ставили під сумнів адекватність застосованого підходу та надавали інші показники поширеності мутацій NBS1 у слов'янських популяціях [15, 23, 24]. В Інституті спадкової патології АМН України молекулярно-генетична діагностика синдрому Ніймеген проводиться з 2004 р. На даний час, діагностовано 32 випадки захворювання (2 - пренатально), найбільше - у Львівській області України. Метою даної роботи було визначення поширеності носіїв типової мутації 657del5 гена NBS1 в популяції Львівської області України за результатами клініко-генетичної верифікації синдрому Ніймеген у пацієнтів.

Матеріал і методи досліджень

За результатами аналізу медичної документації та клінічного стану пацієнтів Львівського міжобласного медико-генетичного центру (ЛММГЦ) та Львівської обласної дитячої спеціалізованої клінічної лікарні сформовано групу із 103 випадків

первинної мікроцефалії без неврологічних порушень, які відзначились високим ризиком NBS і походженням з Львівської області України. Молекулярно-генетичні дослідження протягом 1999-2003 рр проводились R. Vaгон в Інституті генетики людини Університету ім. Гумбольдта (Берлін, Німеччина), у 2004-2008 рр - в ДУ "Інститут спадкової патології АМН України" з використанням методу [4].

Результати досліджень та їх обговорення

На кінець 2008 р. у Львівській області України верифіковано 15 випадків NBS (всі в неспоріднених сім'ях, 2 дитини - в одній родині): найбільше - у Жовківському районі (4), по 3 - у Стрийському та м. Львові, 2 - у Сокальському та по 1 - у Дрогобицькому, Радехівському і Сколівському районах. Якщо ж врахувати 2 випадки пренатальної діагностики даного синдрому у плодів з родин високого ризику у м. Трускавець та Стрийському районі, то можна зробити заключення про найбільш значне відтворення NBS у Жовківському, Стрийському районах та м. Львові.

P. Seeman із співавторами (2004) діагностували синдром Ніймеген у 4 з 67 пацієнтів з мікроцефалією, тобто у чеській популяції серед дітей з мікроцефалією NBS зустрічався майже з удвічі меншою частотою ніж у Львівській області України: 6% та 12,6% відповідно [25]. При аналізі за народжуваністю автори виявили, що 23 випадки мікроцефалії та 13% випадків NBS з'явилися в Чехії протягом 2,5-річного періоду [25]. Враховуючи народжуваність та орієнтовну частоту гетерозиготного носійства мутації гена NBS1 у чеській популяції (90000 новонароджених та 1:130-158 гетерозигот), автори прийшли до висновку, що у чеській популяції що 2,5 роки треба очікувати появи 3 нових випадків синдрому Ніймеген.

У популяції Львівській області України по дві дитини з NBS народилися у 1992, 1998, 2003 та 2007 рр, по одній - у 1989, 1990, 1994, 2001, 2002, 2004, 2005 рр. Максимальний інтервал між появою нових випадків склав 3 роки (1995-1997 рр), мінімальний - 1 рік: не виявлено дітей з NBS, народжених у 1991, 1993, 1999, 2000 та 2006 рр. Щорічною реєстрацією випадків NBS відзначились 2001-2005 рр, що співпадає з роз-

гортанням прицільного селективного скринінгу синдрому Ніймеген у Західному регіоні України. На початку 2008 р. верифіковано 2 випадки NBS, народжені у 2007 р. Отже, у Львівській області України слід очікувати 1-2 випадків NBS щорічно, що дещо перевищує очікувані частоти по чеській популяції [25].

На загал, за 19-річний досліджуваний період (1989-2007 рр) у Львівській області народилося 511598 дітей, з них у 15 верифіковано NBS. Відповідна частота синдрому Ніймеген складає 1 на 34106, гетерозиготних носіїв мутації 657del5 гена NBS1 - 1 на 95 новонароджених. Якщо розраховувати показники по окремих роках і враховувати лише 10 років позитивної реєстрації NBS, то частота гомозиготних носіїв мутації складає 1 на 13640-27648, гетерозиготних носіїв - 1 на 58-83 новонароджених. Це висуває синдром Ніймеген в когорту поширеної спадкової патології в популяції.

Одним з найбільш визнаних підходів до визначення поширеності спадкових захворювань у популяціях є дослідження частоти гетерозиготних носіїв типових мутацій. Стосовно синдрому Ніймеген, такі дослідження вже проводились раніше в межах міжнародного проекту [22] та декількох інтра регіональних досліджень [15, 24, 26, 27], спрямованих на визначення частоти гетерозиготного носійства мутації 657del5 гена NBS1 у популяціях Німеччини, Чехії, Польщі та Львівської області України (табл. 1). Найнижча частота гетерозиготного носійства 657del5 гена NBS1 виявлена в Німеччині [26]: 1/866 новонароджених, що вказує на вірогідну поширеність гомозиготних носіїв 1 на 3 млн населення. В досліджених слов'янських популяціях частота гетерозигот виявилась значно вищою і характеризувалась помітними між популяційними і інтра регіональними коливаннями. Найвищі показники, в межах 1/106 - 1/154 гомозигот за 657del5 гена NBS1, зареєстровані в Чехії [22, 27].

За даними [22], виходячи з частоти гетерозигот 1/130, поширеність гомозиготних носіїв мутації в чеській популяції повинна складати 1 на 68000 новонароджених. У п'ятимільйонній Словаччині діагностовано 14 випадків NBS у дітей з 11 сімей, тоді як в десяти мільйонній Чехії - 21 випадок у 14 сім'ях. Відтак, очікувана частота гетерозиготного носійства мутації

657del5 гена NBS1 у Словаччині має бути вищою ніж в Чехії [23]. При цьому, E.Seemanova із співавторами звертають увагу на парадоксально низьку частоту гетерозиготного носійства мутації 657del5 гена NBS1 у Словаччині: лише 3 випадки на 2996 проаналізованих зразки ДНК [23]. На думку авторів, причина виявленої розбіжності за частотою гетеро- і гомозигот у збереженні традиційних субізолятів, що проявляється "генетичною незбалансованістю" популяції Словаччини і з чим, зокрема, пов'язана висока частота алкаптонурії [23].

Таблиця 1

Частота мутації 657del5 гена NBS1 у зразках крові здорових новонароджених

Країна	Регіон	Кількість гетерозигот/народжених	Частота гетерозигот	Автори
Німеччина	Не визначено	1/866	1/866	[26]
Чехія	Не визначено	7/915	1/106 – 1/154	[22; 27]
Словаччина	Захід, центр, схід	3/2996	1/999	[23]
Польща	південь	12/2277	1/190	[22]
Польща	Мазовше	10/1620	1/162	[15]
Польща	Велкопольська	16/2090	1/131	[24]
Україна	Львівська обл.	5/908	1/182	[22]

Проблема з трактовкою результатів NBS1-скринінгу новонароджених виникла і при аналізі Львівської популяції України. За результатами досліджень 908 зразків ДНК здорових новонароджених [22] було виявлено 5 гетерозиготних носіїв мутації 657del5 гена NBS1, а відповідна частота гетерозигот склала 1/182, що вказувало на вірогідну поширеність NBS у 1 на 133000 новонароджених. Оскільки у власному дослідженні найбільше пацієнтів з NBS було серед дітей з Жовківського району Львівської області (4 з 15 випадків NBS), ми припустили порівняно високу частоту гетерозиготного носійства мутації 657del5 гена NBS1 в згаданій субпопуляції. З метою перевірки даної гіпотези досліджено 500 зразків ДНК новонароджених, обстежених у ЛММГЦ в межах програми масового неонатального скринінгу фенілкетонурії у 2003 р. Не було виявлено жодного випадку носійства мутації 657del5 гена NBS1, що у узгоджується з результатами досліджень в Словаччині [23] і вірогідно пояснюється аналогіч-

ними причинами, проте ставить під сумнів інформативність застосування даного підходу для визначення інтра регіональної поширеності мутацій гена NBS1 у популяціях.

Результати дослідження польської популяції, проведені в межах інтернаціонального проекту [22], виказали найнижчу частоту гетерозиготних носіїв мутації 657del5 гена NBS1 (1/253) порівняно з популяціями Чехії і Львівської області України (1/130 і 1/182 відповідно). При цьому, орієнтовна частота гомозиготних носіїв мутації склала 1:256000 новонароджених. Подальші дослідження довели існування суттєвих відмінностей за частотою типової мутації гена NBS1 в різних регіонах Польщі [15, 24]. I. Ziolkovska із співавторами [24] встановили, що частота гетерозигот в Велкопольська (Wielkopolska) становить 1/131 новонароджених, що значно перевищує показники, отримані для південного регіону Польщі [22] і району Мазовше [15]: 1/190 і 1/162 відповідно. Місцевість Велкопольська також відзначилась суттєвими інтра регіональними відмінностями за частотою NBS1-гетерозигот: найвищі показники відмічено у східній і північній частинах (1/77 та 1/76 новонароджених відповідно), практичну відсутність реєстрації - у південних районах [24]. Автори пов'язують інтра регіональну відмінність за частотою NBS1-гетерозигот у Польщі з міграцією населення і, в якості прикладу, також наводять Нови Сонч. Означена місцевість розташована на півдні країни і відзначається удвічі більш високою частотою NBS1-гетерозигот ніж в середньому у даному регіоні: 1/90 і 1/190 відповідно [22]. При цьому, слід відзначити практично однакові показники частоти NBS1-гетерозигот у територіально наближених південній місцевості Кросно (Польща) і Львівській області України: 1/189 та 1/182 відповідно [22].

Як згадувалось вище, частота синдрому Ніймеген, визначена за результатами скринінгу випадків високого ризику протягом 19-річного періоду, склала 1 на 34106, що вказує на вірогідне гетерозиготне носійство мутації 657del5 гена NBS1 у 1 на 95 новонароджених у Львівській популяції. При проведенні розрахунків за кожний з 10 років позитивної реєстрації NBS, частота гомозиготних носіїв мутації підвищується до 1

на 58-83 новонароджених, а відповідна частота синдрому становить 1 на 13640-27648 новонароджених. Отримані дані суттєво відрізняються від результатів дослідження [22], в якому частота гетерозигот і гомозигот за мутацією 657del5 гена NBS1 складає 1/182 та 1 на 133000 новонароджених відповідно. З іншого боку, наші дані узгоджуються з високими показниками поширеності NBS1-гетерозигот в деяких районах Польщі: північних та східних районів Велкопольські (1/76-77) і особливо у місцевості Нови Сонч, територіально наближеної до Львівської області України (1/90). Отже, результати скринінгу мікроцефалії виявляються більш інформативними для встановлення реальної частоти поширеності носіїв мутації 657del5 гена NBS1 у популяції і саме цей підхід повинен бути рекомендований для ефективного скринінгу NBS у популяціях.

Висновки

1. Частота синдрому Ніймеген у Львівській області України складає 1 на 34106, при врахуванні 10-річного періоду позитивної реєстрації - 1 на 13640-27648 новонароджених, що висуває синдром Ніймеген в когорту поширеної спадкової патології в популяції.

2. Частота гетерозиготних носіїв мутації 657del5 гена NBS1 у Львівській області України складає 1 на 95, при врахуванні 10-річного періоду позитивної реєстрації - 1 на 58-83 новонароджених, що вказує на високу ймовірність NBS1-дефіцитної природи онкологічних захворювань в популяції.

Література

1. Van der Burgt I., Chrzanowska K.H., Smeets D., Weemaes C. *Nijmegen breakage syndrome*//J. Med. Genet. -1996. - Vol.33, № 2. - P.153-156.
2. *Nijmegen breakage syndrome / The International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group*//Arch. Dis. Child. - 2000. - Vol. 82, № 5. - P. 400-406.
3. Kondratenko I., Paschenko O., Polyakov A., Bologov A. *Nijmegen breakage syndrome*//Adv. Exp. Med. Biol. - 2007. - Vol. 601. - P. 61-67.
4. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein,

is mutated in Nijmegen breakage syndrome / Varon R., Vissinga C., Platzer M., e.a.//Cell. - 1998. - Vol. 93, № 3. - P. 467-476.

5. *The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response / Carney J.P., Maser R. S., Olivares H., e.a.*//Cell. - 1998. - Vol. 93, № 3 - P. 477-486.

6. Digweed M., Sperling K. *Nijmegen breakage syndrome: clinical manifestation of defective response to DNA double-strand breaks*//DNA Repair (Amst). - 2004. - Vol. 3, № 8-9. - P. 1207- 1217.

7. Borde V. *The multiple roles of the Mre11 complex for meiotic recombination*//Chromosome Res. - 2007. - Vol. 15, № 5. - P. 551-63.

8. Lee W.T., Chang W.H., Huang C.H., Wu K.J. *NBS1, the Nijmegen breakage syndrome gene product, regulates neuronal proliferation and differentiation*//J. Neurochem. - 2007. - Vol. 102, № 1. - P. 141-152.

9. *NBS1 regulates a novel apoptotic pathway through Bax activation / Iijima K., Muranaka C., Kobayashi J., e.a.*// DNA Repair (Amst). - 2008. - Vol 7, № 10. - P. 1705-1716.

10. *Eleven Polish patients with microcephaly, immunodeficiency and chromosomal instability: the Nijmegen breakage syndrome/ Chrzanowska K.H., Kleijer W.J., Krajewska-Walasek M., e.a.*//Am. J. Med. Genet. - 1995. - Vol. 57, № 3. - P. 462-471.

11. *Unique morphological spectrum of lymphomas in Nijmegen breakage syndrome (NBS) patients with high frequency of consecutive lymphoma formation / Gladkowska-Dura M., Dzierzanowska-Fangrat K., Dura W.T., e.a.*//J. Pathol. - 2008. - Vol. 216, № 3. - P. 337-44.

12. *Non-Hodgkin's lymphoma in pediatric patients with chromosomal breakage syndromes (AT and NBS): experience from the BFM trials / Seidemann K., Henze G., Beck J.D., et al.* //Ann. Oncol. - 2000. - Vol. 11, Suppl.1. - P. 141-5.

13. Seemanova E., Seeman P., Jarolim P. *Chromosome instability syndromes [In Czech]*//Cas. Lek. Cesk. - 2002. - Vol. 141, № 1. - P.16-22.

14. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) in children with Nijmegen Breakage syndrome (NBS) / Dembowska-Baginska B., Perek D., Brozyna A. e.a. // *Pediatr Blood Cancer*. - 2009. - Vol. 52, № 2. - P. 186-90.

15. Increased cancer risk of heterozygotes with NBS1 germline mutations in Poland / J. Steffen, R. Varon, M. Mosor, G. Maneva e.a. // *Int. J. Cancer*. - 2004. - Vol. 111, № 1. - P. 67-71.

16. Germline mutations 657del5 of the NBS1 gene contribute significantly to the incidence of breast cancer in Central Poland / Steffen J., Nowakowska D., Niwinska A. e.a. // *Int. J. Cancer*. - 2006. - Vol. 119, № 2. - P. 472-5.

17. Increased risk of gastrointestinal lymphoma in carriers of the 657del5 NBS1 gene mutation / Steffen J., Maneva G., Poplawska L. e.a. // *Int. J. Cancer*. - 2006. - Vol. 119, № 12. - P. 2970-2973.

18. Carrier frequency of mutation 657del5 in the NBS1 gene in a population of Polish pediatric patients with sporadic lymphoid malignancies / K.H. Chrzanowska, D. Piekutowska-Abramczuk, E. Popowska e.a. // *Int. J. Cancer*. - 2006. - Vol. 118, № 5. - P. 1269-1274.

19. Heterozygotes mutation in the NBS1 gene among children of oncology / Seemanova E., Koutecky J., Radvanska J. e.a. // *Ces-slov. Pediat.* - 2004. - Vol. 59. - P. 242-245.

20. Varon R., Digweed M., Swift M., Sperling K. Cancer risk of heterozygotes with the NBN founder mutation // *J. Natl. Cancer Inst.* - 2007. - Vol. 99, № 24. - P. 1875-80.

21. Nijmegen Breakage Syndrome mutations and risk of breast cancer / Seemanova E., Jarolim P., Seeman P. e.a. // *Int. J. Cancer*. - 2008. - Vol. 122, № 4. - P. 802-806.

22. Clinical ascertainment of Nijmegen breakage syndrome (NBS) and prevalence of the major mutation, 657del5, in three Slav populations / Varon R., Seemanova E., Chrzanowska K. e.a. // *Eur J. Hum. Genet.* - 2000. - Vol. 8, № 11. - P. 900-902.

23. Nijmegen breakage syndrome in Slovakia [Article in Czech] / Seemanova E., Pohanka V., Seeman P. e.a. // *Cas Lek Cesk.* - 2004. - Vol. 143, № 8. - P. 538-541.

24. Ziolkowska I., Mosor M., Nowak J. Regional distribution of heterozygous 657del5 mutation carriers of the NBS1 gene in Wielkopolska province (Poland) // *J. Appl. Genet.* - 2006. - Vol. 47, № 3. - P. 269-272.

25. Nijmegen breakage syndrome in 13% of age-matched Czech children with primary microcephaly / Seeman P., Gebertova K., Paderova K. e.a. // *Pediatr. Neurol.* - 2004. - Vol. 30, № 3. - P. 195-200.

26. Carlomagno F., Chang-Claude J., Dunning A.M., Ponder B.A.J. Determination of the frequency of the common 675del5 Nijmegen breakage syndrome mutation in the German population: no association with risk of breast cancer // *Genes. Chromosomes. Cancer*. - 1999. - Vol. 25, № 4. - P. 393-395.

27. Frequency of 657del(5) mutation of the NBS1 gene in the Czech population by polymerase chain reaction with sequence specific primers / Drabek J., Hajduch M., Gojova L., e.a. // *Cancer Genet. Cytogenet.* - 2002. - Vol. 138, № 2. - P. 157-159.

Резюме

Маркевич Н.В. Частота синдрому Ніймеген у Львівській області України.

Визначено частоту гомозиготних і гетерозиготних носіїв мутації 657del5 гена NBS1 в популяції Львівської області України.

Ключові слова: синдром Ніймеген, мутація 657del5 гена NBS1.

Резюме

Маркевич Н.В. Частота синдрому ніймеген во Львовской области Украины.

Определена частота гомозиготных и гетерозиготных носителей мутации 657del5 гена NBS1 в популяции Львовской области Украины.

Ключевые слова: синдром Ниймеген, мутація 657del5 гена NBS1.

Summary

Markevych N.V. The frequency of Nijmegen breakage syndrome in Lviv's region of Ukraine.

The frequency of homozygous and heterozygous carriers of 657del5 NBS1 gene mutation was estimated in Lvivska region of Ukraine.

Key words: Nijmegen breakage syndrome, 657del5 NBS1 gene mutation.