

УДК 616.36-008.52-056.7:577.213
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-39-45>

Исследование молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера

Иванова А.А.¹, Гуражева А.А.¹, Мельникова Е.С.¹, Максимов В.Н.^{1,2}, Немцова Е.Г.³

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

² Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

³ Северо-Западный государственный медицинский университет (СЗГМУ) им. И.И. Мечникова
Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – поиск новых молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера (СЖ).

Материалы и методы. Дизайн исследования – «случай – контроль». Группа СЖ включает 125 человек (средний возраст $38,5 \pm 11,9$ лет, 58,9% мужчин) с неконъюгированной гипербилирубинемией, у которых исключены известные ее причины. Группа контроля ($n = 323$, средний возраст $48,9 \pm 11,9$ лет, 53,2% мужчины) – случайная выборка лиц из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции из венозной крови. Генотипирование групп по вариантам нуклеотидной последовательности rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, rs4124874 гена *UGT1A1* выполнено методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом на полиакриламидном геле по авторским протоколам.

Результаты. По однонуклеотидным вариантам rs34993780, rs56059937 не найдено носителей редкого аллеля в группе СЖ и контрольной группе. В группе лиц с СЖ найдены два носителя мутации rs4148323 в гетерозиготной форме. По частотам однонуклеотидного варианта rs4124874 найдены статистически значимые различия между группами: гомозиготный генотип GG статистически значимо чаще встречается в группе СЖ по сравнению с контрольной группой (отношение шансов 11,8; 95%-й доверительный интервал 6,9–20,3; $p < 0,001$).

Заключение. Генотип GG однонуклеотидного варианта rs4124874 гена *UGT1A1* ассоциирован с повышенным риском СЖ. В группе лиц с СЖ найдены носители редкой мутации rs4148323 в гетерозиготной форме.

Ключевые слова: синдром Жильбера, rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, rs4124874, ген *UGT1A1*, неконъюгированная гипербилирубинемия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Новосибирской области в рамках ГЗ № 122031700094-5.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (протокол № 24 от 26.04.2022).

Для цитирования: Иванова А.А., Гуражева А.А., Мельникова Е.С., Максимов В.Н., Немцова Е.Г. Исследование молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):39–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-39-45>.

✉ Иванова Анастасия Андреевна, ivanova_a_a@mail.ru

Study of molecular genetic markers of Gilbert's syndrome

Ivanova A.A.¹, Gurazheva A.A.¹, Mel'nikova E.S.¹, Nemcova E.G.³, Maksimov V.N.^{1,2}

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

² Novosibirsk State Medical University (NSMU)

52, Krasnyj Prospekt Str., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

41, Kirochnaya Str., Saint-Petersburg, 191015, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study new molecular genetic markers of Gilbert's syndrome (GS).

Materials and methods. It was a case – control study. The GS group included 125 people (mean age 38.5 ± 11.9 years, 58.9% were men) with unconjugated hyperbilirubinemia; known causes of unconjugated hyperbilirubinemia were excluded. The control group ($n = 323$, mean age 48.9 ± 11.9 years, 53.2% were men) was a random sample of individuals from the DNA bank of participants of the HAPIEE and MONICA projects. DNA was isolated by phenol – chloroform extraction from venous blood. Genotyping of groups by rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, and rs4124874 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *UGT1A1* gene was performed by polymerase chain reaction followed by the polyacrylamide gel analysis according to the author's protocols.

Results. For rs34993780 and rs56059937, no carriers of a rare allele were found in the GS group and the control group. In the GS group, two carriers of a heterozygous mutation rs4148323 were found. Statistically significant differences between the groups were found in the frequencies of rs4124874: homozygous GG was statistically significantly more common in the GS group than in the control group (odds ratio (OR) = 11.8, 95% confidence interval (CI) 6.9–20.3, $p < 0.001$).

Conclusion. The GG genotype of rs4124874 in the *UGT1A1* gene is associated with an increased risk of GS. Carriers of the rare heterozygous mutation rs4148323 were found in the GS group.

Keywords: Gilbert's syndrome, rs3064744, rs34993780, rs56059937, rs4148323, rs4124874, *UGT1A1* gene, unconjugated hyperbilirubinemia

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out with the financial support of the Government of the Novosibirsk region within the framework of the State Budget No. 122031700094-5 of Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the ethics Committee Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 24 of 26.04.2022).

For citation: Ivanova A.A., Gurazheva A.A., Mel'nikova E.S., Nemcova E.G., Maksimov V.N. Study of molecular genetic markers of Gilbert's syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):39–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-39-45>.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром Жильбера (СЖ) (желтуха, диспептические симптомы, астеновегетативный синдром, психоэмоциональные нарушения) – генетически обусловленная форма неконъюгированной гипербилирубинемии, встречается у 2–10% европейцев [1].

На данный момент доступной подтверждающей диагностикой СЖ является молекулярно-генетическое исследование мутации rs3064744 (количество ТА-повторов в промоторе) гена *UGT1A1*. Известно, что не всегда носительство мутации в гомозиготной форме 7ТА/7ТА приводит к развитию клинических признаков СЖ, что связано с низкой экспрессивностью и

пенетрантностью варианта [1]. В ряде случаев неконъюгированная гипербилирубинемия может развиваться при генотипах 6ТА/7ТА, 6ТА/6ТА мутации rs3064744 [2, 3].

Таким образом, предполагается, что существуют другие мутации, которые приводят к развитию СЖ и влияют на степень проявления его клинических признаков. Поиск данных мутаций поможет в подтверждении диагноза у лиц с клинической картиной СЖ, но без носительства гомозиготного генотипа 7ТА/7ТА мутации rs3064744.

Таким образом, целью исследования является поиск новых молекулярно-генетических маркеров синдрома Жильбера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования – «случай – контроль». Группа СЖ ($n = 125$, средний возраст $38,5 \pm 11,9$ лет, 58,9% мужчин) сформирована врачами-гастроэнтерологами, в нее включены лица с неконъюгированной гипербилирубинемией, прошедшие стандартное клиническое обследование. Из группы исключены лица с известными причинами неконъюгированной гипербилирубинемии. У лиц, включенных в группу случая, была забрана венозная кровь, из которой в дальнейшем выделяли ДНК методом фенолхлороформной экстракции.

Группа контроля ($n = 323$, средний возраст $48,9 \pm 11,9$ лет, 53,2% мужчины) – случайная выборка лиц из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции из венозной крови.

Для 104 человек из группы СЖ ранее была проведена молекулярно-генетическая диагностика по определению количества ТА повторов в промоторе гена *UGT1A1* (rs3064744) [3]. Группе контроля и 21 оставшемуся человеку из группы СЖ определено количество ТА повторов в промоторе гена *UGT1A1* методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом на полиакриламидном геле (рис. 1).

Для генотипирования по rs3064744 использовали праймеры: 5'-AACATTAACCTGGTGTATCGATTGG-3'(F) и 5'-CTTTGCTCCTGCCAGAGGTTCT-3'(R). Смесь для полимеразной цепной реакции (ПЦР) объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20мМ, Tween-20 0,01%, 3,0 мМ MgCl_2 , по 0,8 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, одну единицу активности ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 57 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Размер продукта амплификации 82 п.н. при генотипе 6ТА/6ТА, 82 п.н.

и 84 п.н. для генотипа 6ТА/7ТА, 84 п.н. для генотипа 7ТА/7ТА.



Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации мутации rs3064744 на полиакриламидном геле: 1 – генотип 7ТА/7ТА, 2, 3 – генотип 6ТА/7ТА, 4 – контрольный образец с генотипом 6ТА/7ТА

Для исследования в качестве новых молекулярно-генетических маркеров СЖ, по данным литературы, отобраны четыре однонуклеотидных варианта гена *UGT1A1* – rs34993780 (*UGT1A1**7), rs56059937 (*UGT1A**62), rs4148323 (*UGT1A1**6), rs4124874 (*UGT1A1**60). Генотипирование групп по выбранным вариантам проведено методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по авторским протоколам.

Для генотипирования по rs34993780 использовали праймеры: 5'-AGTTTGTGATGAGGCACA-3'(F) и 5'-TTCTTAACTCGCCCTTTT-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 10 мкл 2,5-кратной смеси для ПЦР-РВ №М-428 (ЗАО «Синтол», Россия), 1,2 мМ MgCl_2 , по 0,6 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 33 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 56 °С 30 с и элонгацию 72 °С 20 с. Рестрикцию проводили с 10 единицами активности рестриктазы *RsaI* («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 190 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировались продукты 121 п.н., 63 п.н., 6 п.н., при генотипе GG – продукты 127 п.н., 63 п.н., при гетерозиготном генотипе TG все перечисленные продукты: 127 п.н., 121 п.н., 63 п.н., 6 п.н.

Для генотипирования по rs56059937 использовали праймеры: 5'-ACSTTGAAGACGTACCSTGTGGTA-3'(F) и 5'-TGATCACACGCTGCAGGA-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 1,0 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 60 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Рестриктию проводили с 10 единицами активности рестриктазы RsaI («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 109 п.н. После проведения рестрикции при генотипе ТТ детектировались продукты 96 п.н., 13 п.н., при СС генотипе – продукты 85 п.н., 13 п.н., 11 п.н., при гетерозиготном генотипе ТС все перечисленные продукты: 96 п.н., 85 п.н., 13 п.н., 11 п.н.

Для генотипирования по rs4148323 использовали праймеры: 5'-GTCCCATGCTGGGAAGATACTGTT-3'(F) и 5'-ACGTCTTCAAGGTGTAAAATGGGC-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 12,5 мкл реакционной смеси БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (ООО «БИОЛАБМИКС», Новосибирск), по 1,2 мМ каждого праймера, 2 мкг ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 60 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Рестриктию проводили с 10 единицами активности рестриктазы HaeIII («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 164 п.н. После проведения рестрикции при генотипе АА детектировались продукты 99 п.н., 65 п.н., при GG генотипе – продукты 75 п.н., 65 п.н., 24 п.н., при гетерозиготном генотипе GA все перечисленные продукты: 99 п.н., 75 п.н., 65 п.н., 24 п.н.

Для генотипирования по rs4124874 использовали праймеры: 5'-GATTAACCAAGAACA TTCTAACGG-3'(F) и 5'-TGATGTTCTCAAATTG STTTGTTTCG-3'(R). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: Трис-НСI (рН 9,0) 75 мМ, (NH₄)₂SO₄ 20 мМ, Tween-20 0,01%, 3,5 мМ MgCl₂, по 1,2 мМ каждого праймера, 0,2 мМ смеси dNTP, 2 мкг ДНК, одну единицу активности ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 35 цикла, включающих денатурацию 95 °С 30 с, отжиг праймеров 60 °С 30 с и элонгацию 72 °С 30 с. Рестриктию проводили с 10 единицами активности рестриктазы TaqI («СибЭнзим», Новосибирск). Размер продукта амплификации 209 п.н. После проведения рестрикции при генотипе GG детектировался продукт 209 п.н., при ТТ генотипе – продукты 186 п.н. и 23 п.н., при гетерозиготном ге-

нотипе TG все перечисленные продукты: 209 п.н., 186 п.н., 23 п.н.

Полученные результаты генотипирования статистически обработаны, с использованием критерия χ^2 оценено соответствие частот генотипов равновесию Харди – Вайнберга в контрольной группе. Сравнение групп по частотам генотипов и аллелей, относительный риск по конкретному аллелю или генотипу вычислены с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 по Пирсону, точного двустороннего критерия Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве уровня значимости использован $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Работа по поиску молекулярно-генетических маркеров СЖ была начата в 2012–2016 гг. Тогда в группе лиц с неконъюгированной гипербилирубинемией (104 человека) был проведен поиск мутации rs3064744 (количество ТА повторов в промоторе) гена *UGT1A1* [3]. На данный момент группа расширена до 125 человек. Частоты генотипов мутации rs3064744 в расширенной группе представлены на рис. 2. В группе контроля, сформированной из банка ДНК участников проектов НАРПЕЕ, MONICA, также проведен поиск мутации rs3064744 гена *UGT1A1*. Так, 12% лиц из группы контроля оказались носителями гомозиготного варианта 7ТА/7ТА (см. рис. 2). По частотам генотипов мутации rs3064744 найдены статистически значимые различия между группами ($p < 0,001$). Генотип 7ТА/7ТА мутации rs3064744 чаще встречается в группе СЖ по сравнению с контрольной группой (отношение шансов (ОШ) 12,9; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 7,9–21,3; $p < 0,001$).

По однонуклеотидным вариантам rs34993780 (*UGT1A1*7*), rs56059937 (*UGT1A*62*) не найдено носителей редкого аллеля в группе СЖ и контрольной группе. В группе лиц с СЖ найдены два носителя мутации rs4148323 (*UGT1A1*6*) в гетерозиготной форме. Оба пациента также являются гетерозиготными носителями мутации rs3064744 гена *UGT1A1* (6ТА/7ТА).

Частоты генотипов варианта rs4124874 (*UGT1A1*60*) находятся в равновесии Харди – Вайнберга в контрольной группе ($\chi^2 = 3,81$). По частотам однонуклеотидного варианта rs4124874 (*UGT1A1*60*) найдены статистически значимые различия между группами ($p < 0,001$) (рис. 3). Гомозиготный генотип GG варианта статистически значимо чаще встречается в группе СЖ по сравнению с контрольной группой (ОШ = 11,8; 95%-й ДИ 6,9–20,3; $p < 0,001$). Аллель G варианта rs4124874 является аллелем риска СЖ (ОШ = 7,4; 95%-й ДИ 4,9–11,1; $p < 0,001$).

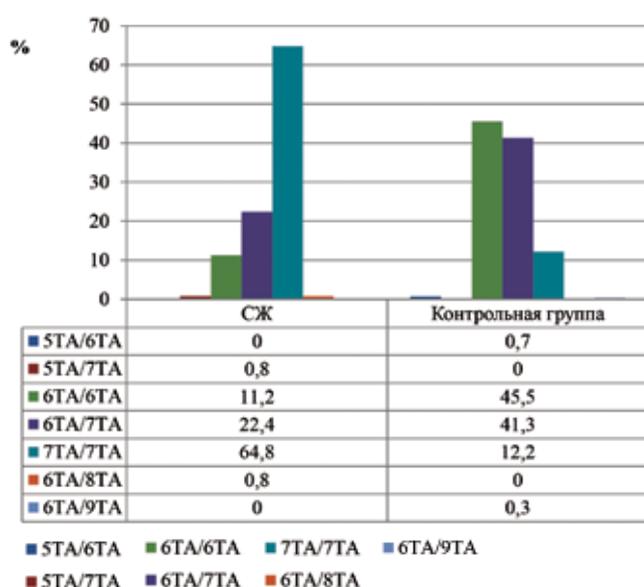


Рис. 2. Частоты генотипов мутации rs3064744 в группе СЖ и контрольной группе

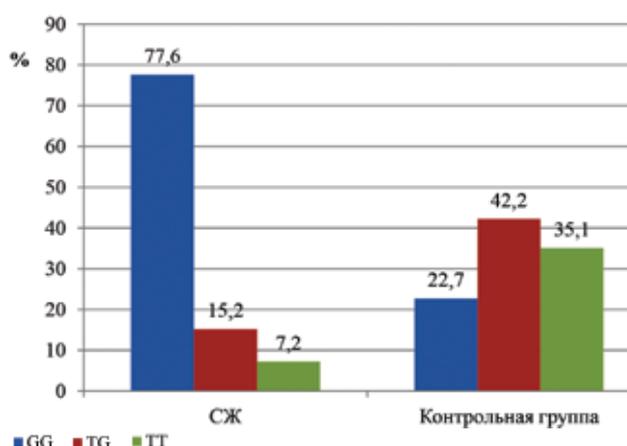


Рис. 3. Частоты генотипов однонуклеотидного варианта rs4124874 в группе СЖ и контрольной группе

Есть данные литературы, которые свидетельствуют о том, что вариант rs4124874 сцеплен с промоторным вариантом rs3064744 [4]. Сочетания генотипов вариантов rs4124874 и rs3064744 в группе СЖ представлены в таблице.

Таблица

Сочетания генотипов вариантов rs4124874 и rs3064744 в группе СЖ				
Показатель		rs4124874		
		GG	TG	TT
rs3064744	5ТА/7ТА	1	0	0
	6ТА/6ТА	3	2	9
	6ТА/7ТА	14	14	0
	6ТА/8ТА	1	0	0
	7ТА/7ТА	76	3	0

В группе СЖ по сравнению с контрольной группой достоверно чаще встречается сочетание генотипа 7ТА/7ТА мутации rs3064744 и GG варианта rs4124874 (ОШ = 14,9; 95%-й ДИ 8,1–27,4; $p < 0,001$), реже сочетания генотипов 6ТА/6ТА мутации rs3064744 и TG варианта rs4124874 (ОШ = 0,22; 95%-й ДИ 0,05–0,98; $p = 0,032$), генотипов 6ТА/6ТА мутации rs3064744 и TT варианта rs4124874 (ОШ = 0,16; 95%-й ДИ 0,07–0,33; $p < 0,001$), генотипов 6ТА/7ТА мутации rs3064744 и TG варианта rs4124874 (ОШ = 0,25; 95%-й ДИ 0,13–0,47; $p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам проведенного исследования, у 64,8% лиц из группы с СЖ количество ТА-повторов (rs3064744) в промоторе гена *UGT1A1* увеличено до семи в двух копиях гена. Это, согласно данным литературы, связано со снижением активности фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы 1А1 и может приводить к развитию клинических симптомов СЖ [5, 6]. Являются носителями генотипа 6ТА/7ТА мутации rs3064744 22,4% лиц с неконъюгированной гипербилирубинемией, 11,2% имеют нормальный генотип – 6ТА/6ТА. Также в группе есть носители редких генотипов – 5ТА/7ТА и 6ТА/8ТА. Преобладающее количество лиц из контрольной группы являются носителями генотипов 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА, при которых развития клинических симптомов СЖ чаще всего не происходит (86,8%), однако в контрольной группе есть носители генотипа 7ТА/7ТА (12,2%), а также носители редких генотипов 5ТА/6ТА, 6ТА/9ТА.

Контрольная группа представляет собой случайную выборку из банка ДНК участников проектов HAPIEE, MONICA. Для контрольной группы отсутствуют данные об эпизодах неконъюгированной гипербилирубинемии в анамнезе или о диагностированном СЖ. Таким образом, существует вероятность, что в контрольной группе присутствует небольшое число лиц с диагностированным или не диагностированным СЖ. Однако интерес для исследования представляют лица из группы СЖ с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА и неконъюгированной гипербилирубинемией, у которых были исключены другие ее причины, кроме генетических.

Мутации rs34993780 (*UGT1A1**7), rs56059937 (*UGT1A**62), rs4148323 (*UGT1A1**6) связаны с развитием СЖ [5–9]. При этом варианты являются распространенными для СЖ у жителей Азии, исследований вариантов в отношении СЖ для европейцев нами найдено не было. Согласно проведенному исследованию, не обнаружено носителей редких аллелей

лей вариантов rs34993780 (*UGT1A1**7) и rs56059937 (*UGT1A**62) в группе СЖ и контрольной группе, что может говорить о действительно небольшом вкладе данных вариантов в развитие СЖ у лиц европеоидной расы. Но для подтверждения этого вывода необходимо провести исследование на большей выборке лиц с СЖ.

В группе СЖ идентифицировано два носителя варианта rs4148323 (*UGT1A1**6) в гетерозиготной форме, которые также являются носителями гетерозиготного генотипа 6ТА/7ТА мутации rs3064744. Известно, что вариант rs4148323 (*UGT1A1**6) в гомозиготной форме связан с развитием СЖ и снижением активности фермента УДФ-глюкуронозилтрансферазы 1А1 на 70% по сравнению с диким типом [5]. Таким образом, два человека из группы СЖ с неконъюгированной гипербилирубинемией с большой вероятностью являются компаунд-гетерозиготами по вариантам, которые в гомозиготной форме связаны с развитием СЖ.

Таким образом, можно предположить, что лица с клиническими симптомами СЖ, но генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА мутации rs3064744 являются носителями других мутаций гена *UGT1A1*. Это вызывает изменение активности фермента и, соответственно, клинические проявления синдрома. Поэтому для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА мутации rs3064744, неконъюгированной гипербилирубинемией и подозрением на СЖ более эффективным может стать проведение прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *UGT1A1* для поиска других патогенных вариантов нуклеотидной последовательности гена, которые являются причиной развития клинических проявлений СЖ.

Вариант rs4124874 (*UGT1A1**6, g.172270T>G) является распространенным вариантом в популяции, для европейцев частота редкого аллеля составляет около 0,43 (gnomAD). Частота аллеля G в контрольной группе, согласно нашим результатам, составляет 0,44. Вариант связан с транскрипционной активностью гена *UGT1A1* и играет роль в развитии клинических симптомов СЖ при наличии других вариантов гена *UGT1A1* [10]. Согласно ClinVar, вариант rs4124874 является вариантом с конфликтом интерпретаций (вероятно патогенный, патогенный, доброкачественный, фактор риска СЖ). По данным нашего исследования, генотип GG и аллель G варианта rs4124874 являются рисковыми для СЖ.

Комбинации генотипов 6ТА/6ТА мутации rs3064744 и TG или TT варианта rs4124874, генотипов 6ТА/7ТА мутации rs3064744 и TG варианта rs4124874 статистически значимо чаще встречаются в группе контроля. Это свидетельствует о том, что

скорее всего данное сочетание генотипов не приводит к развитию СЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Однонуклеотидный вариант rs4124874 гена *UGT1A1* ассоциирован с СЖ: генотип GG и аллель G варианта являются рисковыми для СЖ. В группе лиц с СЖ найдены носители редкой мутации rs4148323 (*UGT1A1**6) в гетерозиготной форме, которые также являются носителями генотипа 6ТА/7ТА мутации rs3064744. Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, можно сделать вывод, что не только мутация rs3064744 является важным фактором в развитии клинических симптомов СЖ.

Таким образом, проведение молекулярно-генетического исследования на определение количества ТА повторов в промоторе гена *UGT1A1* (rs3064744) является необходимым и первым этапом молекулярно-генетической диагностики СЖ, так как в почти 65% случаях является достаточным, поскольку позволяет выявить генотип 7ТА/7ТА, который связан с развитием СЖ.

Для лиц с генотипами 6ТА/6ТА, 6ТА/7ТА мутации rs3064744, с неконъюгированной гипербилирубинемией и подозрением на СЖ следующим эффективным этапом молекулярно-генетической диагностики должно стать проведение прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *UGT1A1* для поиска других мутаций и вариантов гена, которые могут быть причиной развития клинических проявлений СЖ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- King D., Armstrong M.J. Overview of Gilbert's syndrome. *Drug Ther. Bull.* 2019;57(2):27–31. DOI: 10.1136/dtb.2018.000028. PMID: 30709860.
- Kringen M.K., Pehler A.P., Grimholt R.M., Opdal M.S., Haug K.B., Urdal P. Serum bilirubin concentration in healthy adult North-Europeans is strictly controlled by the UGT1A1 TA-repeat variants. *PLoS One.* 2014;9(2):e90248. DOI: 10.1371/journal.pone.0090248.
- Maruo Y., D'Addario C., Mori A., Iwai M., Takahashi H., Sato H. et al. Two linked polymorphic mutations (A(TA)7TAA and T-3279G) of UGT1A1 as the principal cause of Gilbert syndrome. *Hum. Genet.* 2004;115(6):525–526. DOI: 10.1007/s00439-004-1183-x.
- Steventon G. Uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1. *Xenobiotica.* 2020;50(1):64–76. DOI: 10.1080/00498254.2019.1617910.
- Gazzin S., Masutti F., Vitek L., Tiribelli C. The molecular basis of jaundice: An old symptom revisited. *Liver Int.* 2017;37(8):1094–1102. DOI: 10.1111/liv.13351.
- Udomuksorn W., Elliot D.J., Lewis B.C., Mackenzie P.I., Yoovathaworn K., Miners J.O. Influence of mutations associated with Gilbert and Crigler-Najjar type II syndromes

- on the glucuronidation kinetics of bilirubin and other UDP-glucuronosyltransferase 1A substrates. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17(12):1017–1029. DOI: 10.1097/FPC.0b013e328256b1b6.
7. Zhou J., Yang C., Zhu W., Chen S., Zeng Y., Wang J. et al. Identification of Genetic Risk Factors for Neonatal Hyperbilirubinemia in Fujian Province, Southeastern China: A Case-Control Study. *Biomed. Res. Int.* 2018;2018:7803175. DOI: 10.1155/2018/7803175.
8. Bale G., Avanthi U.S., Padaki N.R., Sharma M., Duvvur N.R., Vishnubhotla V.R.K. Incidence and risk of gallstone disease in Gilbert's syndrome patients in Indian population. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2018;8(4):362–366. DOI: 10.1016/j.jceh.2017.12.006.
9. Sugatani J., Yamakawa K., Yoshinari K., Machida T., Takagi H., Mori M. et al. Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter and its association with hyperbilirubinemia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002;292(2):492–497. DOI: 10.1006/bbrc.2002.6683.

Вклад авторов

Иванова А.А. – разработка концепции и дизайна исследования, статистическая обработка и анализ данных, написание текста статьи. Гуражева А.А., Мельникова Е.С. – выполнение молекулярно-генетического исследования. Максимов В.Н. – разработка концепции и дизайна исследования, окончательное утверждение для публикации рукописи. Немцова Е.Г. – формирование групп исследования.

Информация об авторах

Иванова Анастасия Андреевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ivanova_a_a@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9460-6294>

Гуражева Анна Александровна – науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, annapalna1@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1547-624X>

Мельникова Елизавета Сергеевна – аспирант, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, jarinaleksi@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9033-1588>

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН; профессор, кафедра медицинской генетики и биологии, НГМУ, г. Новосибирск, medik11@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7165-4496>

Немцова Елена Геннадьевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии им. С.М. Рысса, СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, neg-85@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1501-6796>

✉ **Иванова Анастасия Андреевна**, ivanova_a_a@mail.ru

Поступила в редакцию 02.11.2022;
одобрена после рецензирования 16.11.2022;
принята к публикации 08.12.2022