

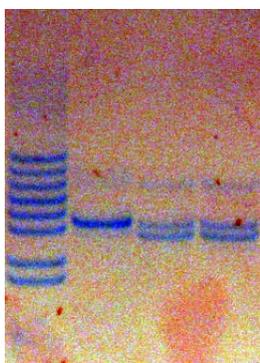
UGT1A1-STR

Условия ПЦР

Первая денатурация	30 циклов	Последний синтез цепи
96°C, 2 мин	94°C, 20 сек 58°C, 20 сек 72°C, 20 сек	72°C, 5 мин

Детекция результатов

- 1) Электрофорез в полиакриламидных гелях (ПАГ) – скрининговый тест;
- 2) Секвенирование продуктов ПЦР – подтверждающий тест (при необходимости).



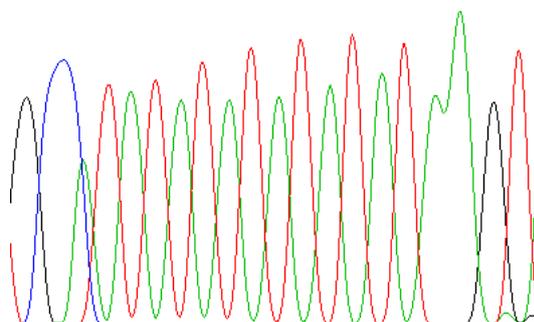
Фрагмент окрашенного бромистым этидием неденатурирующего ПАГ (10%, 19:1). Электрофорез проводился в вертикальной камере 20x20 см (VE-20, «Хеликон», Россия) с буфером IX ТБЕ при напряжении 600В в течение трёх часов (до достижения красителем ксиленцианол нижнего края геля).

Дорожка 1 – аллельная “лестница” на locus *D22S1045* с шагом между аллелями 3 п.н., от 88 до 112 п.н.

Дорожка 2 – исследуемый образец по locus *UGT1A1-STR*, «мутантный» генотип 7/7 (99 п.н.).

Дорожки 3 и 4 – исследуемые образцы по locus *UGT1A1-STR*, гетерозиготный генотип 6/7 (97 и 99 п.н.).

Г С С А Т А Т А Т А Т А Т А Т А Т А Т А А Г Т

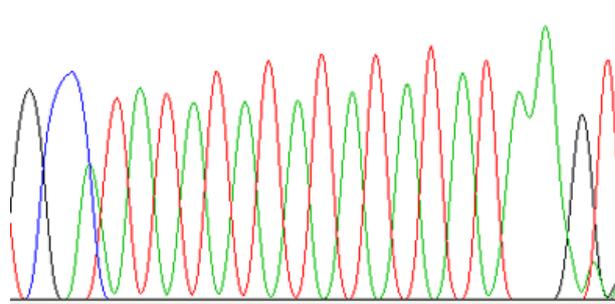


Фрагмент нуклеотидной последовательности микросателлита *UGT1A1-STR* для «**нормального**» гомозиготного генотипа 6/6 (ДНК К562).

Структура повтора: А-(ТА)₆-ТАА.

Результат секвенирования продукта ПЦР размером 97 п.н.

Г С С А Т А Т А Т А Т А Т А Т А Т А Т А Т А А Г Т



Фрагмент нуклеотидной последовательности микросателлита *UGT1A1-STR* для «**мутантного**» гомозиготного генотипа 7/7.

Структура повтора: А-(ТА)₇-ТАА.

Результат секвенирования продукта ПЦР размером 99 п.н.

Длина тандемного повтора: 2 нуклеотида (ТА).

Другие названия: *UGT1A-TA insertion in promoter*, *UGT1A1*28*, *UGT1A1*36*, *UGT1A1*37*.

Хромосомная локализация: 2q37.1 (позиции 233 760 200 – 233 760 300)



По данным BLAT: <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat> (версия Dec.2013, GRCh38/hg38).

Референтные генотипы

ДНК L-68	ДНК 9948	ДНК 9947A	ДНК 007	ДНК K562	ДНК 2800M	ДНК CO
6/7	6/7	6/6 (WT)	6/6 (WT)	6/6 (WT)	6/6 (WT)	6/6 (WT)

Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Структура тандемных повторов в референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
AY533180	21-JAN-2005	a-(TA) ₇ -taa	99
NG_033238	23-FEB-2014	a-(TA) ₆ -taa	97

AY533180: “Homo sapiens uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene, promoter region”.

NG_033238: “Homo sapiens UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1 (UGT1A1), RefSeqGene on chromosome 2”.

GC-состав ПЦР-продукта: 41% (для аллеля «дикого» типа, с шестью повторами).

Общие сведения и диагностическая значимость

Микросателлит *UGT1A1-STR* ([rs8175347](#)) расположен в промоторном участке первого экзона гена, кодирующего цитоплазматический фермент *уридиндифосфатглюкуронилтрансферазу 1* (УДФГТ, УДФ-глюкуронидаза 1, *UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1*). Этот фермент играет ключевую роль в глюкуронизации (связывании с глюкуроновой кислотой) ряда гидрофобных эндогенных соединений: в первую очередь – билирубина, а также стероидных гормонов, желчных кислот, ксенобиотиков (лекарственные препараты, канцерогены). Глюкуронизация делает такие соединения растворимыми в воде, что обеспечивает их переход в желчь и выведение из организма с мочой.

Применительно к метаболизму свободного билирубина, недостаточная активность фермента УДФГТ приводит к повышению концентрации билирубина в крови и, как следствие, накоплению его в тканях организма (гипербилирубинемия; синдром Жильбера, СЖ, Gilbert syndrome, ОМIM: [143500](#); синдром Криглера-Найара, Crigler-Najjar syndrome type I and II, ОМIM: [218800](#), [606785](#); желтуха новорожденных семейная, transient familial neonatal hyperbilirubinemia, ОМIM: [237900](#)). В настоящее время для этих заболеваний полагается утосомно-рецессивный тип наследования (*Chowdhury et al., 2001*).

Снижение активности фермента УДФГТ может быть обусловлено различными мутациями в гене *UGT1A* (UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A complex locus; NCBI Gene ID: [7361](#)). Размер гена *UGT1A* составляет около 200 тыс. оснований, при этом он содержит девять альтернативных первых экзонов, которые обозначаются как *UGT1A1*, *UGT1A3-UGT1A10* (*PharmGKB, Whirl-Carrillo et al., 2012*).

В 1995 г. было показано, что мутация в промоторном участке гена *UGT1A1* является необходимой, но недостаточной для полной манифестации СЖ (*Bosma et al., 1995*). Эта мутация, снижающая активность фермента УДФГТ, представляет собой вставку двух нуклеотидов в ТАТА-боксе промотора гена: «нормальная» последовательность A(TA)₆TAA трансформируется в последовательность A(TA)₇TAA. При этой мутации транскрипционная активность гена снижается примерно до 70% от нормы (*Bosma et al., 1995; Tukey et al., 2002*).

К настоящему времени для микросателлита *UGT1A1-STR* показано существование не менее четырёх аллелей: A(TA)₆TAA («дикого типа», wild type – WT, *UGT1A1*1*), A(TA)₇TAA (наиболее частый мутантный, *UGT1A1*28*), а также аллелей (TA)₅ (*UGT1A1*36*) и (TA)₈ (*UGT1A1*37*) (*Beutler et al., 1998; Farrar et al., 2011; Premawardhena et al., 2003*). При этом активность фермента УДФГТ находится в обратной зависимости от числа повторов (*Farrar et al., 2011*).

Частота мутантного аллеля *UGT1A1*28* в различных популяциях следующая: 26-39% для европеоидов, 9-33% – для азиатских популяций, 40-56% для негритянских популяций (*Beutler et al., 1998; Farrar et al., 2011; Fertrin et al., 2002; Kaniwa et al., 2005; Lampe et al., 1999; PharmGKB*).

Другие мутантные аллели, *UGT1A1*36* и *UGT1A1*37*, обнаружены главным образом в негритянских популяциях, с частотами от 2 до 16% (Beutler et al., 1998; Farrar et al., 2011; Pacheco et al., 2009; PharmGKB; Premawardhena et al., 2003).

Данные о полиморфизме микросателлита *UGT1A1-STR* в популяциях России в настоящее время представлены отрывочно, но при этом выявлены все четыре известных аллеля (Захарова и др., 2011; Куропаткина и др., 2005; Шаталова и др., 2006).

Исходя из хромосомной локализации, микросателлит *UGT1A1-STR* может быть сцеплен с полиморфным локусом *D2S1338* (используется в приложениях по идентификации личности).

Применительно к диагностике синдрома Жильбера, всем детям с гипербилирубинемией и подозрением на СЖ рекомендуется проводить генетическое исследование как приоритетное (Захарова и др., 2011). Если при проведении такого молекулярно-генетического исследования для микросателлита *UGT1A1-STR* выявляются генотипы 7/7, 8/8 и 7/8 (два последних генотипа – весьма редко), то полученный результат подтверждает снижение функциональной активности фермента УДФГТ и подтверждает диагноз СЖ.

Если при проведении исследования выявляется генотип 6/7 (в гетерозиготном состоянии), то полученный результат также подтверждает снижение функциональной активности фермента УДФГТ. Однако полученные результаты в этом случае уже не позволяют однозначно ни подтвердить, ни опровергнуть диагноз СЖ, поскольку аллель 7 в гетерозиготном состоянии с высокой частотой встречается и у здоровых людей.

Молекулярно-генетический анализ *UGT1A1-STR* также показан для пациентов, которым планируется лечение рядом лекарственных препаратов, в частности: атазанавиром, иринотеканом (на уровне подбора оптимальных доз этих препаратов в зависимости от генотипа по *UGT1A1-STR*, **Dosing Guidelines**), а также арформотеролом, акситинибом, белиноставом, клобазамом, нилотинибом и др. (на уровне **annotated drug labels**, по данным PharmGKB).

Например, иринотекан (irinotecan, camptosar, campto) в настоящее время является основным препаратом для лечения колоректального рака (первая линия химиотерапии), а также рака яичников и мелкоклеточного рака лёгкого (вторая линия). Активный метаболит иринотекана, SN38, является субстратом фермента УДФГТ. Для снижения риска токсических проявлений химиотерапии (в частности – тяжёлой нейтропении и диареи) рекомендуется уменьшение дозы иринотекана для пациентов с гомозиготным генотипом *UGT1A1*28/*28*, даны и другие рекомендации (Innocenti et al., 2004; Etienne-Grimaldi et al., 2015).

Препарат атазанавир (atazanavir, reyataz), используемый в антиретровирусной терапии, является ингибитором как протеазы ВИЧ, так и фермента УДФГТ. В группе риска по гипербилирубинемии, вызываемой этим препаратом, находятся пациенты с аллелями *UGT1A1*28* и **37* (Gammal et al., 2016).

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *UGT1A1-STR*

Аллели (*)	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (**)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для расчётов индекса и вероятности родства (***)
5 (*36)	95	0	0,001
6 (*1, Wild type)	97	0,6822	0,682
7 (*28)	99	0,3178	0,316
8 (*37)	101	0	0,001

(*) Нумерация аллелей согласно числу содержащихся в них тандемных повторов. В скобках приводится альтернативное обозначение аллелей.

(**) популяционные данные для населения России в настоящее время представлены весьма отрывочно; приведены данные из работы Шаталовой и др., 2006 (популяционная выборка из 118 здоровых женщин).

(***) оценка частот аллелей проведена по данным, суммированным для европеоидного населения США и Европы (729 неродственных человек из 8 популяций, по данным Gammal et al., 2016).

Ссылки

- Захарова И.Н., Пыков М.И., Калоева З.В., Катаева Л.А., Шишкина С.В., Бережная И.В., Резниченко Е.В., Молоткова Н.В. (2011) Апостериорная ценность клинических и лабораторных проявлений синдрома Жильбера у детей. – Педиатрическая фармакология, 8 (4), 101-104. ISSN [2500-3089](#).
- Куропаткина Ю.В., Карабанов А.В., Шулятьев И.С., Тверская С.М., Поляков А.В. (2005) Инсерция в промоторной области гена *UGT1* и непереносимость лекарственных препаратов. – Медицинская генетика, 4 (5), 216. Материалы V Съезда Российского общества медицинских генетиков. ISSN: [2073-7998](#).
- Шаталова Е.Г., Логинов В.И., Брага Э.А., Казубская Т.П., Судомоина М.А., Бланчард Р.Л., Фаворова О.О. (2006) Ассоциация полиморфизма генов *SULT1A1* и *UGT1A1* с риском заболевания раком молочной железы и с его фенотипом у русских женщин. – Молекулярная биология, 40 (2), 263-270. PMID: [16637266](#).

- Beutler E., Gelbart T., Demina A. (1998) Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? – Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95 (14), 8170-8174. PMID: [9653159](#).
- Bosma P.J., Chowdhury J.R., Bakker C., Gantla S., de Boer A., Oostra B.A., Lindhout D., Tytgat G.N., Jansen P.L., Oude Elferink R.P., Chowdhury N.R. (1995) The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. – N. Engl. J. Med., 333 (18), 1171-1175. PMID: [7565971](#).
- Chowdhury J.R., Wolkoff A.W., Chowdhury N.R., Arias I.M. (2001) Hereditary jaundice and disorders of bilirubin metabolism. In: Scriver C.R.; Beaudet A.L.; Sly W.S.; Valle D. (eds.): The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. Vol. 2. New York: McGraw-Hill (8th ed.), 2000, pp. 3063-3101. ISBN: [9780079130358](#).
- Etienne-Grimaldi M.C., Boyer J.C., Thomas F., Quaranta S., Picard N., Loriot M.A., Narjoz C., Poncet D., Gagnieu M.C., Ged C., Broly F., Le Morvan V., Bouquié R., Gaub M.P., Philibert L., Ghiringhelli F., Le Guellec C.; Collective work by Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO-Unicancer); French Réseau National de Pharmacogénétique Hospitalière (RNPGx). (2015) UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: general review and implementation in routine practice. – Fundam. Clin. Pharmacol., 29 (3), 219-237. PMID: [25817555](#).
- Farrar J.S., Palais R.A., Wittwer C.T. (2011) Snapback primer genotyping of the Gilbert syndrome UGT1A1 (TA)(n) promoter polymorphism by high-resolution melting. – Clin. Chem., 57 (9), 1303-1310. PMID: [21771946](#).
- Fertrin K.Y., Gonçalves M.S., Saad S.T., Costa F.F. (2002) Frequencies of UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) gene promoter polymorphisms among distinct ethnic groups from Brazil. – Am. J. Med. Genet., 108 (2), 117-119. PMID: [11857560](#).
- Gammal R.S., Court M.H., Haidar C.E., Iwuchukwu O.F., Gaur A.H., Alvarellos M., Guillemette C., Lennox J.L., Whirl-Carrillo M., Brummel S., Ratain M.J., Klein T.E., Schackman B.R., Caudle K.E., Haas D.W. (2016) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for UGT1A1 and Atazanavir Prescribing. – Clin. Pharmacol. Ther., 99 (4), 363-369. PMID: [26417955](#).
- Haverfield E.V., McKenzie C.A., Forrester T., Bouzekri N., Harding R., Serjeant G., Walker T., Peto T.E., Ward R., Weatherall D.J. (2005) UGT1A1 variation and gallstone formation in sickle cell disease. – Blood, 105 (3), 968-972. PMID: [15388579](#).
- Innocenti F., Undevia S.D., Iyer L., Chen P.X., Das S., Kocherginsky M., Karrison T., Janisch L., Ramirez J., Rudin C.M., Vokes E.E., Ratain M.J. (2004) Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. – J. Clin. Oncol., 22 (8), 1382-1388. PMID: [15007088](#).
- Kaniwa N., Kurose K., Jinno H., Tanaka-Kagawa T., Saito Y., Saeki M., Sawada J., Tohkin M., Hasegawa R. (2005) Racial variability in haplotype frequencies of UGT1A1 and glucuronidation activity of a novel single nucleotide polymorphism 686C> T (P229L) found in an African-American. – Drug Metab. Dispos., 33 (3), 458-465. PMID: [15572581](#).
- Lampe J.W., Bigler J., Horner N.K., Potter J.D. (1999) UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1*28 and UGT1A6*2) polymorphisms in Caucasians and Asians: relationships to serum bilirubin concentrations. – Pharmacogenetics, 9 (3), 341-349. PMID: [10471066](#).
- Pacheco P.R., Brilhante M.J., Ballart C., Sigalat F., Polena H., Cabral R., Branco C.C., Mota-Vieira L. (2009) UGT1A1, UGT1A6 and UGT1A7 genetic analysis: repercussion for irinotecan pharmacogenetics in the São Miguel Island Population (Azores, Portugal). – Mol. Diagn. Ther., 13 (4), 261-268. PMID: [19712005](#).
- PharmGKB: <https://www.pharmgkb.org/gene/PA420>
- Premawardhena A., Fisher C.A., Liu Y.T., Verma I.C., de Silva S., Arambepola M., Clegg J.B., Weatherall D.J. (2003) The global distribution of length polymorphisms of the promoters of the glucuronosyltransferase 1 gene (UGT1A1): hematologic and evolutionary implications. – Blood Cells Mol. Dis., 31 (1), 98-101. PMID: [12850492](#).
- Tukey R.H., Strassburg C.P., Mackenzie P.I. (2002) Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferases and irinotecan toxicity. – Mol. Pharmacol., 62 (3), 446-450. PMID: [12181419](#).
- UGT1A1 Pyro Handbook, Qiagen: <https://www.qiagen.com/ru/resources/resourcedetail?id=971f7672-dd5a-4630-9987-39556ddee548&lang=en>
- Whirl-Carrillo M., McDonagh E.M., Hebert J.M., Gong L., Sangkuhl K., Thorn C.F., Altman R.B., Klein T.E. (2012) Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. – Clin. Pharmacol. Ther., 92 (4), 414-417. PMID: [22992668](#).

Формат комплектации наборов

- Набор на 100 скрининговых реакций с детекцией продуктов ПЦР в неденатурирующих ПАГ. **Аллельная «лестница» в состав наборов по этому локусу не входит.** Вместо неё рекомендуется использовать продукты ПЦР гетерозиготных образцов контрольных ДНК или аллельную «лестницу» на локус *D22S1045*.
- Дополнительный набор для секвенирования 24 (48) образцов, включая набор для очистки соответствующего числа ПЦР-реакций.
- Набор на 100 (400) скрининговых реакций с детекцией продуктов ПЦР на капиллярном электрофорезе (только фрагментный анализ).

