

## АНОТАЦІЯ

**Шиманська І.Є. Мутації гена *ATP7B* у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія (09 «біологія»). – Державна установа "Інститут спадкової патології Національної академії медичних наук України", Львів, 2022. – Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2022.

Робота присвячена дослідженню спектру та частоти алельних варіантів гена *ATP7B* серед осіб з підозрою хвороби Вільсона з України, а також покращенню виявлення випадків хвороби Вільсона шляхом розробки та впровадження оптимального алгоритму тестування мажорних мутацій генів-кандидатів гепатобіліарних порушень в осіб молодого віку. Для диференційної діагностики ідіопатичних гепатобіліарних порушень проводили генотипування мажорних мутацій генів *HFE* та *UGT1A1*. Також встановлено їх частоту та внесок в етіологію гепатобіліарних порушень.

Хвороба Вільсона характеризується високою смертністю, однак незворотні зміни в тканинах можуть бути попереджені за умови раннього виявлення. Біохімічні тести часто є неспецифічними, та підтверджують захворювання на етапі, коли вже відбулись серйозні зміни в органах та тканинах. Лише генетичні дослідження дозволяють виявити захворювання ще до появи симптомів. Складність підтвердження хвороби Вільсона зумовлена наявністю етнічних та популяційних особливостей в спектрі та частоті патогенних варіантів гена *ATP7B*, а також гетерогенністю клінічних проявів.

Прояви моногенних захворювань гепатобіліарної системи часто не відрізняються від уражень іншої етіології, що значно ускладнює діагностику. Хвороба Вільсона, спадковий гемохроматоз, синдром Жильбера - аутосомно-рецесивні захворювання, які зазвичай вперше виявляються лише в дорослому віці.

Алельні варіанти гена *ATP7B* мають різні частоти в окремих популяціях та етнічних групах, даних про частоту та спектр мутацій гена *ATP7B* серед пацієнтів в Україні не має. Зважаючи на наявність ефективного лікування, але відсутність вчасного виявлення через мультисистемність проявів, дуже важливо, щоб генетичні дослідження були швидкими та економічно доступними. Зробити це можна шляхом впровадження генетичного тестування найпоширеніших патогенних варіантів гена *ATP7B* в Україні.

Першим етапом дисертаційної роботи було встановлення частоти мутацій генів *ATP7B*, *HFE*, *UGT1A1* серед практично здорових осіб та серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями. Молекулярно-генетичний аналіз мутації с. 3207C>A гена *ATP7B* проведено в зразках 800 практично здорових осіб, алелю A(TA)<sub>7</sub>TAA гена *UGT1A1* серед 196 практично здорових осіб, мутацій с.845G> A та с.187C> G гена *HFE* серед 280 практично здорових осіб загальної вибірки мешканців західних областей України. В основну групу увійшли 172 особи з гепатобіліарними порушеннями нез'ясованого генезу та 96 осіб з клінічною підозрою хвороби Вільсона, 43 особи з підозрою синдрому Жильбера. Генотипування алельного варіанту с.3207C>A гена *ATP7B* проводили методом ПЛР Bi-PASA, низькофункціонального алелю A(TA)<sub>7</sub>TAA гена *UGT1A1* методом гетеродуплексного аналізу, алельних варіантів с.845G> A та с.187C> G гена *HFE* методом рестрикційного аналізу. У результаті даного етапу роботи встановлено частоту гетерозиготного носійства мутації с.3207C>A гена *ATP7B* (1:57, 1,75%) серед практично здорових осіб, частоту гетерозиготних носіїв мутації с. 845G>C гена *HFE* в загальній вибірці - 1:40 (2,5%). Кожен четвертий був гетерозиготним носієм алельного варіанту с.187C>G гена *HFE*. Частота гомозиготного генотипу низькофункціонального алеля (TA)<sub>7</sub>TAA гена *UGT1A1* становить 1:9 (11,7%). Зважаючи на найвищу частоту, дослідження групи осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями почали з генотипування низькофункціонального алелю A(TA)<sub>7</sub>TAA гена *UGT1A1*. Результати генотипування показали низьку інформативність даного дослідження у вибірці осіб з гепатобіліарними порушеннями нез'ясованого генезу. Далі визначали частоту алельних варіантів

гена *HFE*, для яких доведено асоціацію з розвитком спадкового гемохроматозу. *HFE* генотипи с.845G>A/с.845G>A; с.187C>G/с.845G>A виявлено у 5,8% осіб з гепатобіліарними порушеннями нез'ясованого генезу.

Отже, у результаті першого етапу роботи визначено етіологічні чинники ідіопатичних гепатобіліарних порушень: мутації гена *HFE* (5,8%) та мутація с.3207C>A гена *ATP7B* (9,4%).

Наступним етапом роботи було формування секвенування кодуючої послідовності гена *ATP7B*. Секвенування проведено у 23 зразках ДНК осіб з клінічними ознаками хвороби Вільсона (три та більше балів відповідно до бальної шкали проявів захворювання).

Секвенування почали з 8-го екзону гена *ATP7B*. У чотирьох пацієнтів виявлено однакову перебудову – р.Glu770Argfs. У трьох з них мутація була в компаунд гетерозиготному стані з мажорною мутацією с.3207C>A. В однієї пацієнтки після секвенування усієї послідовності гена та детекції великих делецій та дуплікацій (MLPA) виявлено лише мутацію с.2304dupC. В одного пацієнта виявлено мутацію с.2128G>A в межах екзону 8. Мутація описана в базі даних HGMD як патогенна (rs137853285). За результатами секвенування та порівняння з референтною послідовністю, в екзоні 9 гена не виявлено перебудов у жодному із зразків ДНК. Секвенування цієї ділянки гена не є інформативне для досліджуваної популяції. У межах екзона 13 виявлено заміну аденіну на цитозин в положенні 3011 (с.3011A>C). У двох осіб в межах екзона 13 виявлено заміну аденіну на цитозин в положенні 2973 кДНК (с.2973A>C). Цей варіант не веде до зміни послідовностей амінокислот у білку і трактується у базах даних як однонуклеотидний поліморфізм rs1801248. Також, виявлено дві особи із заміною гуаніну на аденін в положенні 3009 гена *ATP7B* (с.3009G>A) в гетерозиготному стані (rs1801247). В межах екзону 13 виявлено три алельні варіанти. У двох осіб в межах екзона 15 виявлено мутацію с.3402delC.

Відповідно до отриманих результатів секвенування екзона 10 гена *ATP7B*, виявлено міссенс заміну с.2495A>G в гетерозиготному стані у 6 пацієнтів, та у двох осіб в гомозиготному стані. У результатів секвенування з 16 по 21 екзонів

гена *ATP7B* в досліджуваних зразках ДНК пацієнтів відмінностей від референтної послідовності гена не виявлено. Не виявлено відмінностей від референтної послідовності у межах екзонів 1, 2, 11 та 12 гена *ATP7B*. В межах ексона 3 гена *ATP7B* в чотирьох осіб виявлено однонуклеотидний поліморфізм с.1366C>G (AG[C/T]GT) rs1801244 - заміну амінокислоти валіну на лейцин в положенні 456 в гетерозиготному стані, у трьох - в гомозиготному стані. Також виявлено варіант в 4 екзоні с.1551C>T, який на сьогодні не описаний. У результаті роботи не встановлено перебудов у екзонах 5, 6 та 7.

Отримані результати секвенування вказують на те, що окрім переважаючої мутації с.3207C>A гена *ATP7B* серед даної вибірки осіб ідентифіковано чотири інші патогенні варіанти, що виявлялись у екзонах 8, 13 та 15. У третини пацієнтів при відсутності патогенних алелів в екзонних послідовностях гена *ATP7B* виявлено один чи декілька однонуклеотидних поліморфізмів нейтрального значення.

З огляду на вище зазначені дані, впровадження в практику виявлених частих варіантів гена *ATP7B* дозволить скоротити час та підвищити ефективність проведення лабораторного дослідження та зробить його доступним. Зважаючи на виявлені в роботі випадки хвороби Вільсона у дітей, необхідно підвищити настороженість окрім терапевтів, педіатрів, дитячих гастроентерологів, інфекціоністів щодо діагностики хвороби Вільсона в тому числі в дитячому віці, зважаючи на доступність патогенетичної терапії.

Апробовано різні молекулярно-генетичні підходи для генотипування фрагмента промотора гена *UGT1A1*, та фрагментів 8 та 14 екзонів гена *ATP7B* для швидкої та економічно вигідної діагностики. Встановлено внесок мутацій гена *ATP7B*, *HFE* та *UGT1A1* в етіологію ідіопатичних гепатобіліарних захворювань в осіб молодого віку.

З часу впровадження в практику генетичного тестування переважаючої мутації с.3207C>A гена *ATP7B*, на основі наших результатів, фахівцями відповідного профілю підтверджено діагноз у 27 з 96 осіб з підозрою хвороби Вільсона. Слід відзначити, що у третині випадків хворобу діагностовано в дитячому віці.

Отримані результати вказують на доцільність впровадження в практику генетичного тестування частих патогенних варіантів гена *ATP7B*. Вважаємо доцільним проведення генетичного тестування з метою визначення етіологічних чинників гепатобіліарних порушень, відповідно до сформованого за результатами дослідження алгоритму.

*Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що:*

- Встановлено частоту гетерозиготного генотипу за мутацією с.3207C>A гена *ATP7B* серед загальної вибірки мешканців західних областей України (1:57, 1,75%).
- Показано, що міссенс-заміна с.3207C>A в гені *ATP7B* є мажорною для осіб з хворобою Вільсона в Україні; частота цього алелю серед генетично підтверджених випадків становить 82,6%.
- За результатами секвенування кодуючої послідовності вперше описано спектр мутацій гена *ATP7B*, характерних для пацієнтів з хворобою Вільсона з України.
- Показано, що прогнозована на основі отриманих результатів частота випадків хвороби Вільсона в Україні становить 1:13061, і є в двічі вищою, ніж опубліковані дані.

*Практичне значення одержаних результатів.*

- Впроваджено молекулярно-генетичну діагностику частих мутацій гена *ATP7B* методом ПЛР Ві-PASA та аналізом ПДРФ.
- У результаті впровадження генетичного тестування мажорних мутацій гена *ATP7B* у 27 осіб виявлено генотип, асоційований з хворобою Вільсона, серед них у 9 в дитячому віці та у 3 на доклінічній стадії.
- Запропоновано алгоритм генетичного тестування генів-кандидатів ідіопатичних гепатобіліарних порушень.
- Отримані результати вказують на вищу очікувану частоту генотипу хвороби Вільсона, її гіподіагностику та потребу інформування лікарів щодо цієї генетичної хвороби в усіх випадках ідіопатичних гепатобіліарних порушень в осіб молодого віку.

- За результатами роботи видано інформаційний лист «Генетичне тестування мажорних мутацій гена *ATP7B* для пацієнтів з клінічними ознаками хвороби Вільсона» (Рішення Вченої Ради ДУ «ІСП НАМН України» № 10 Від 4 жовтня 2021).

*Ключові слова:* ген *ATP7B*, ген *HFE*, ген *UGT1A1*, гепатобіліарна система, автоімунний гепатит, хвороба Вільсона, синдром Жильбера, спадковий гемохроматоз, моногенні захворювання, генетична діагностика, медико-генетичне консультування.

## ***ANNOTATION***

**Shymanska I.Ye. Mutations of the *ATP7B* gene in patients with idiopathic hepatobiliary disorders and Wilson's disease - Qualifying research paper on the rights of the manuscript.**

The dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 - biology (09 "biology"). – State Institution "Institute of Hereditary Pathology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" Lviv, 2022. – Ivan Franko National University of Lviv, 2022.

The work is dedicated to the study of the spectrum and frequency of allelic variants of the *ATP7B* gene among people with suspected Wilson's disease from Ukraine, as well as to the improvement of the diagnosis of Wilson's disease by developing and implementing an optimal algorithm for testing major mutations of candidate genes for hepatobiliary disorders in young people. For the differential separation of idiopathic hepatobiliary disorders, genotyping of major mutations of the *HFE* and *UGT1A1* genes was performed. Their frequency and contribution to the etiology of hepatobiliary disorders have also been established.

Wilson's disease is characterized by high mortality, but irreversible tissue changes can be prevented if detected early. Laboratory tests are non-specific and detect the disease when there have already been serious changes in the teeth and gums. Only genetic studies can detect the disease even before symptoms appear. The

difficulty of confirmation is caused by the presence of ethnic and population characteristics in the spectrum and frequency of pathogenic variants of genes, as well as the heterogeneity of clinical manifestations.

Manifestations of monogenic diseases of the hepatobiliary system often do not differ from lesions of other etiologies, which greatly complicates diagnosis. Wilson disease, hereditary hemochromatosis, and Gilbert syndrome are autosomal recessive diseases that are usually first detected in adulthood.

Allelic variants of the *ATP7B* gene have different frequencies in individual populations and ethnic groups. There is no data on the frequency and spectrum of mutations of the *ATP7B* gene among patients in Ukraine. Given the availability of effective treatment but lack of early detection due to multisystemic manifestations, it is critical that genetic testing be rapid and cost-effective. This can be done by implementing genetic testing of the most common pathogenic variants of the *ATP7B* gene in Ukraine.

The first stage of the dissertation was to establish the frequency of *ATP7B*, *HFE*, and *UGT1A1* gene mutations among practically healthy individuals and individuals with idiopathic hepatobiliary disorders. Molecular genetic analysis of the *ATP7B* gene mutation c. 3207C > A was performed in 800 practically healthy individuals; the A (TA) 7TAA allele of the *UGT1A1* gene in 196 practically healthy individuals; and the *HFE* gene mutations c.845G > A and c.187C > G in 280 practically healthy individuals from the Western regions of Ukraine. The main groups included 172 people with hepatobiliary disorders of unknown origin, 96 people with clinical suspicion of Wilson's disease, and 43 people with a suspicion of Gilbert syndrome. Genotyping of the allelic variant c.3207C > A of the *ATP7B* gene was performed by the Bi-PASA PCR method; the low-functional allele A (TA) 7TAA of the *UGT1A1* gene by the heteroduplex analysis method; and the allelic variants c.845G > A and c.187C > G of the *HFE* gene by the restriction analysis method. As a result of this stage of the work, the frequency of heterozygous carriers of the c.3207C > A mutation of the *ATP7B* gene was established (1:57, 1.75%) among practically healthy individuals, and the frequency of heterozygous carriers of the c.845G > C mutation of the *HFE* gene in the total sample was 1:40 (2.5%). Every fourth person

was a heterozygous carrier of the c.187C > G allelic variant of the *HFE* gene. The frequency of the homozygous genotype of the low-functioning allele (TA) 7TAA of the *UGT1A1* gene is 1:9 (11.7%). Considering the highest frequency, the study of a group of individuals with idiopathic hepatobiliary disorders began with genotyping of the low-functioning allele A (TA) 7TAA of the *UGT1A1* gene. The results of genotyping showed the low informativeness of this study in a sample of people with hepatobiliary disorders of unknown origin. The next step of the study was to establish the frequency of pathogenic genotypes of the *HFE* gene. The pathogenic genotypes of the *HFE* gene were found in 5.8% of the population. As a result of the first stage of work, the etiological factors of idiopathic hepatobiliary disorders were determined: mutations of the *HFE* gene (5.8%) and c.3207C > A mutation of the *ATP7B* gene (9.4%).

The next stage of the work was the sequencing of the coding sequence of the *ATP7B* gene. Sequencing was performed on 23 DNA samples of individuals with clinical signs of Wilson's disease (three or more points according to the point scale of disease manifestations).

Sequencing began with the 8th exon of the *ATP7B* gene. The same rearrangement was found in four patients - p.Glu770Argfs. In three of them, the mutation was in the compound heterozygous state with the major mutation c.3207C > A. In one patient, after sequencing the entire gene sequence and detecting large deletions and duplications (MLPA), only the c.2304dupC mutation was detected. One patient has a c.2128G > A mutation within exon 8. The mutation is described in the HGMD database as pathogenic (rs137853285). According to the results of sequencing and comparison with the reference sequence, no rearrangements were detected in exon 9 of the gene in any of the DNA samples. Sequencing this region of the gene is not informative for the studied population. Within exon 13, the replacement of adenine with a cytosine at position 3011 (c.3011A > C) was detected. In two individuals, an adenine to cytosine substitution was found within exon 13 at position 2973 cDNA (c.2973A > C). This variant does not lead to a change in the amino acid sequences in the protein and is interpreted in the databases as a single nucleotide polymorphism, rs1801248. Also, two individuals with a substitution of



guanine for adenine at position 3009 of the *ATP7B* gene (c.3009G > A) were found in the heterozygous state (rs1801247). Three allelic variants were found within exon 13. The c.3402delC mutation was detected in two individuals within exon 15.

According to the results of the sequencing of exon 10 of the *ATP7B* gene, the missense substitution c.2495A > G was detected in the heterozygous state in six patients and two individuals in the homozygous state. In the results of sequencing from 16 to 21 exons of the *ATP7B* gene in the studied DNA samples of patients, no differences from the reference sequence of the gene were found. There are no differences from the reference sequence within exons 1, 2, 11, and 12 of the *ATP7B* gene. Within exon 3 of the *ATP7B* gene, a single-nucleotide polymorphism c.1366C > G (AG [C/T] GT) rs1801244 was found in four individuals; substitution of the amino acid valine for leucine at position 456 in the heterozygous state and three in the homozygous state. A variant c.1551C > T in exon 4, which has not been described to date, was also detected. As a result of the work, no rearrangements were found in exons 5, 6, and 7.

The obtained sequencing results indicate that in addition to the predominant c.3207C > A mutation of the *ATP7B* gene, four other pathogenic variants were identified among this sample of individuals, which were detected in exons 8, 13, and 15. In a third of patients, in the absence of pathogenic alleles in the exon sequences of the *ATP7B* gene, one or more single-nucleotide polymorphisms of neutral value were detected.

Taking into account the above data, the implementation of the detected frequent variants of the *ATP7B* gene into practice will reduce the time and increase the efficiency of laboratory research and make it available. Taking into account the cases of Wilson's disease in children found in the work, it is necessary to increase the alertness of therapists, pediatricians, children's gastroenterologists, and infectious disease specialists regarding the diagnosis of Wilson's disease, including in childhood, taking into account the availability of pathogenetic therapy.

Various molecular genetic approaches were tested for genotyping the promoter fragment of the *UGT1A1* gene and fragments of exons 8 and 14 of the *ATP7B* gene for quick and cost-effective diagnosis. The contribution of *ATP7B*, *HFE*, and

*UGT1A1* gene mutations to the etiology of idiopathic hepatobiliary diseases in young people was established.

Since the introduction into the practice of genetic testing of the prevalent for our population c.3207C > A mutation of the *ATP7B* gene, based on our results, specialists of the relevant profile have confirmed the diagnosis of a third of people with suspected Wilson's disease. Among all cases, less than a third were diagnosed in childhood.

The obtained results indicate the expediency of implementing genetic testing of frequent pathogenic variants of the *ATP7B* gene into practice. According to the algorithm formed based on the results of the study, we consider it expedient to carry out genetic testing to determine the etiological factors of hepatobiliary disorders.

***The scientific novelty of the obtained results is that:***

The frequency of the c.3207C > A heterozygous genotype mutation of the *ATP7B* gene among the general sample of residents from the western regions of Ukraine was established (1:57, 1,75%).

- It is shown that the missense mutation c.3207C > A in the *ATP7B* gene is major for people with Wilson's disease in Ukraine; the frequency of this allele among genetically confirmed cases is 82.6%.

- According to the results of the sequencing of the coding sequence, the spectrum of mutations of the *ATP7B* gene, characteristic of patients with Wilson's disease from Ukraine, was described for the first time.

- It is shown that the predicted frequency of Wilson's disease in Ukraine is 1:13061 based on the obtained results and is twice as high as the published data.

***The practical significance of the obtained results.***

- Molecular genetic diagnosis of frequent mutations of the *ATP7B* gene PCR by Bi-PASA and analysis of RFLP was introduced.

- As a result of the introduction of genetic testing for major mutations of the *ATP7B* gene, the genotype associated with Wilson's disease was found in 27 people, among them 9 in childhood and 3 in the preclinical stage.

- An algorithm for genetic testing of candidate genes for idiopathic hepatobiliary disorders is proposed.

- The obtained results indicate a higher expected frequency of the genotype of Wilson's disease, is underdiagnosis, and the need to inform doctors about this genetic disease in all cases of idiopathic hepatobiliary disorders in young people.

- According to the results, and information sheet "Genetic testing of major mutations of the ATP7B gene for patients with clinical signs of Wilson's disease" was issued (Decision of the Scientific Council of the SI "IHP NAMS of Ukraine" No. 10. October 4, 2021).

**Keywords:** *ATP7B* gene, *HFE* gene, *UGT1A1* gene, hepatobiliary system, autoimmune hepatitis, Wilson's disease, Gilbert syndrome, hereditary hemochromatosis, monogenic diseases, genetic diagnosis, medical and genetic counseling.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### *Статті у наукових фахових виданнях України, що індексовані в міжнародних наукометричних базах даних Scopus та Web of Science*

1. Makukh H., Hayboniuk\* I., Zarina A., Semeriak O. M., Gailite L. Mutations in the *ATP7B* Gene in Ukrainian Patients with High Risk of Wilson's Disease, *Cytol Genet.*, 2020, vol. 54, no. 4, pp. 324–332. Електронна версія: <https://cytgen.com/en/2020/53-62N4V54.htm> (Scopus). *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, роботі з літературою, інтерпретації результатів досліджень, підготовці статті до друку.*

### *Статті у наукових фахових виданнях України*

2. Гайбонюк І. Спектр і частота мутацій гена *ATP7B* в різних популяціях та етнічних групах. *Вісник Львівського університету: Серія біологічна.* 2019. № 80. С. 3-12. Електронна версія: <http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/article/view/1008>. *Особистий внесок здобувача полягає у проведення роботи з літературою та підготовці статті до друку.*

3. Гайбонюк І.Є., Макух Г.В., Тиркус М.Я., Третяк Б.І., Яджин Л. М. Мутації Н1069Q гена *ATP7B* та С282Y та Н63D гена *HFE* в осіб з гепатобіліарними захворюваннями нез'ясованого генезу. *Вісник проблем біології і медицини.* 2019. № 1 (149). С. 224-229. Електронна версія: [https://vpbm.com.ua/ua/vyipusk-1-tom-2-\(149\),-2019/12179](https://vpbm.com.ua/ua/vyipusk-1-tom-2-(149),-2019/12179). *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні лабораторних досліджень, роботі з літературою, інтерпретації результатів досліджень, підготовці статті до друку.*

---

\* Наубоніук (Гайбонюк) – дівоче прізвище здобувачки Шиманської І.Є.

4. Гайбонюк І.Є., Макух Г.В. Аналіз низько функціональної алелі 7(TA) гена *UGT1A1* серед вибірки практично здорових осіб Західного регіону України. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, Серія «Біологія»*. 2019. № 33. С.28-34. Електронна версія: <https://periodicals.karazin.ua/biology/article/view/14692>. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні лабораторних досліджень, роботі з літературою, інтерпретації результатів досліджень, підготовці статті до друку.*

5. Гайбонюк І.Є., Кравченко С.А., Макух Г.В., Дац-Опока М.І., Пампуха В.М., Третяк Б.І., Кіселик І.О. Частота асоційованого з синдромом Жильбера низько функціонального алелю 7(TA) гена *UGT1A1* (rs8175347) в Україні. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Випуск 2 (156), С. 91-96. Електронна версія: [https://vpbm.com.ua/ua/vyipusk-2-\(156\),-2020/13831](https://vpbm.com.ua/ua/vyipusk-2-(156),-2020/13831). *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні лабораторних досліджень, роботі з літературою, інтерпретації результатів досліджень, підготовці статті до друку.*

#### ***Статті, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації***

1. Haiboniuk Ivanna, Kitsera Nataliya, Osadchuk Zoriana, Tretyak Bogdan, Makukh Halyna. Frequency of the HFE gene mutation C282Y and H63D in patients with hepatobiliary disease from Lviv region. *J Sci Discov* (2021); 5(2): jsd21005.

2. Haiboniuk I., Dats-Opoka M., Makukh H., Wojko Ya., Kiselyk I. Genetic diagnostics and clinical features of Wilson's disease in children. *EUREKA. Life sciences*. 2020. Vol. 2. P. 3-9.

3. Гайбонюк І., Макух Г.В., Завгородня Н.Г., Лук'яненко О.Ю., Семеряк О. Результати генетичної діагностики мутацій гена *ATP7B* серед осіб високого ризику хвороби Вільсона. Тези доп. Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 25-ти річчю Національної академії медичних наук України. Київ. 2018. С. 108-109.

4. Haiboniuk I., Zarina A., Rots D., Gailite L., Makukh H., Kovaliv I. The results of genetic diagnostic of *ATP7B* gene mutations among individuals with high-

risk of Wilson's disease. Book of Abstr. ESHG Conference, Gothenburg. Sweden. June 15-18, 2019.

5. Haiboniuk I., Makukh H., Zarina A., Gailite L. The molecular-genetic diagnostic of Wilson's disease among patients from Ukraine. Book of Abstr. 5<sup>th</sup> Annual International Remote Conference Science and Society. Canada. 2020. P.109-110.

6. Гайбонюк І.Є., Макух Г.В. Генетична діагностика при ураженнях гепатобіліарної системи нез'ясованого генезу. Тези доп. XVI-й Міжнародної конференції студентів, молодих вчених та фахівців, присвяченої 25-річчю від дня відродження кафедр внутрішньої медицини, внутрішніх хвороб, загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Харків. 28-28 березня, 2019. С. 64-65.

7. Shymanska I., Tyrka M., Zastawna D., Makukh H., Tyrkus M. Approach of HRM analysis for *ATP7B* gene common variants screening. Book of Abstr. ESHG Conference, Vienna, Austria. June 11-14. 2022. E-P16-007.