

# Облікова картка дисертації (ОКД)

Шифр спецради: ДФ 35.051.074

Відкрита

Вид дисертації: 08

Державний обліковий номер: 0822U100947

Дата реєстрації: 27-09-2022



## 1. Відомості про здобувача

ПІБ (укр.): Шиманська Іванна Єлисеївна

ПІБ (англ.): Shymanska Ivanna Yelyseivna

Шифр спеціальності, за якою відбувся захист: 091

Дата захисту: 20-09-2022

На здобуття наукового ступеня: Доктор філософії (д.філ)

Спеціальність за освітою: Генетика

## 2. Відомості про установу, організацію, у вченій раді якої відбувся захист

Назва організації: Львівський національний університет імені Івана Франка

Підпорядкованість: Міністерство освіти і науки України

Код ЄДРПОУ: 02070987

Адреса: вул. Університетська, буд. 1, м. Львів, Львівська обл., 79000, Україна

Телефон: 380322616048

E-mail: zag\_kan@lnu.edu.ua

WWW: <http://www.lnu.edu.ua>

### **3. Відомості про організацію, де виконувалася (готувалася) дисертація**

**Назва організації:** Львівський національний університет імені Івана Франка

**Підпорядкованість:** Міністерство освіти і науки України

**Код ЄДРПОУ:** 02070987

**Адреса:** вул. Університетська, буд. 1, м. Львів, Львівська обл., 79000, Україна

**Телефон:** 380322616048

**E-mail:** zag\_kan@lnu.edu.ua

**WWW:** <http://www.lnu.edu.ua>

**Назва організації:** Державна установа "Інститут спадкової патології Національної академії медичних наук України"

**Підпорядкованість:** Міністерство охорони здоров'я України

**Код ЄДРПОУ:** 02012065

**Адреса:** вул. Лисенка, буд. 31-а, м. Львів, Львівська обл., 79008, Україна

**Телефон:** 380322752131

**Телефон:** 380322765499

**E-mail:** root@ihp.lviv.ua

**WWW:** <http://www.amnu.gov.ua/>

### **4. Відомості про організацію, де працює здобувач**

**Назва організації:** Державна установа "Інститут спадкової патології Національної академії медичних наук України"

**Підпорядкованість:** Міністерство охорони здоров'я України

**Код ЄДРПОУ:** 02012065

**Адреса:** вул. Лисенка, буд. 31-а, м. Львів, Львівська обл., 79008, Україна

**Телефон:** 380322752131

**Телефон:** 380322765499

**E-mail:** root@ihp.lviv.ua

**WWW:** <http://www.amnu.gov.ua/>

### **5. Наукові керівники та консультанти**

#### **Наукові керівники**

Макух Галина Василівна (д. б. н., пров.н.с., 03.00.15)

Федоренко Віктор Олександрович (д. б. н., професор, 03.00.15)

## 6. Офіційні опоненти та рецензенти

### Офіційні опоненти

Федота Олена Михайлівна (д. б. н., професор, 03.00.15)

Півень Оксана Олександрівна (д. б. н., професор, 03.00.22)

### Рецензенти

Матійців Наталія Петрівна (к. б. н., доц., 03.00.15)

Голуб Наталія Ярославівна (к. б. н., доц., 03.00.15)

## 7. Підсумки дослідження та кількісні показники

**Підсумки дослідження:** 40 - Нове вирішення актуального наукового завдання

**Кількість сторінок:** 154

**Кількість додатків:** 1

**Ілюстрації:** 30

**Таблиці:** 19

**Схеми:**

**Використані першоджерела:** 151

**Кількість публікацій:** 14

**Кількість патентів:**

**Впровадження результатів роботи:**

**Мова документа:** Українська

**Зв'язок з науковими темами:** № 10117U000655

## 8. Індекс УДК тематичних рубрик НТІ

**Індекс УДК:** 575.1/.2:616, 61:575, 575.224.2:616.36-004.1

**Тематичні рубрики:** 34.23.53, 76.03.39

## 9. Тема та реферат дисертації

### Тема (укр.)

Мутації гена АТР7В у пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями та хворобою Вільсона

### Тема (англ.)

Mutations of the АТР7В gene in patients with idiopathic hepatobiliary disorders and Wilson's disease

### Реферат (укр.)

Робота присвячена дослідженню спектру та частоти алельних варіантів гена АТР7В 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 НFE та UGT1A1. Також встановлено їх частоту та внесок в етіологію гепатобіліарних порушень. Першим етапом дисертаційної роботи було встановлення частоти мутацій генів АТР7В, НFE, UGT1A1 серед практично здорових осіб та серед осіб з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями. Генотипування алельного варіанту с.3207С>А гена АТР7В проводили методом ПЛР Ві-РАСА, низькофункціонального алелю А(ТА)7ТАА гена UGT1A1 методом гетеродуплексного аналізу, алельних варіантів с.845G> А та с.187С> G гена НFE методом рестрикційного аналізу. У результаті даного етапу роботи встановлено частоту гетерозиготного носійства мутації с.3207С>А гена АТР7В (1:57, 1,75%) серед практично здорових осіб, частоту гетерозиготних носіїв мутації с. 845G>С гена НFE в загальній вибірці - 1:40 (2,5%). Кожен четвертий був гетерозиготним носієм алельного варіанту с.187С>G гена НFE. Частота гомозиготного генотипу низькофункціонального алеля (ТА)7ТАА гена UGT1A1 становить 1:9 (11,7%). Отже, у результаті першого етапу роботи

визначено етіологічні чинники ідіопатичних гепатобіліарних порушень: мутації гена HFE (5,8%) та мутація c.3207C>A гена ATP7B (9,4%). Наступним етапом роботи було формування секвенування кодуєчої 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 – p.Glu770Argfs. У трьох з них мутація була в компаунд гетерозиготному стані з мажорною мутацією c.3207C>A. В однієї пацієнтки після секвенування усєї послідовності гена та детекції великих делецій та дуплікацій (MLPA) виявлено лише мутацію c.2304dupC. В одного пацієнта виявлено мутацію c.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 (c.3011A>C). У двох осіб в межах екзона 13 виявлено заміну аденіну на цитозин в положенні 2973 кДНК (c.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 (c.3009G>A) в гетерозиготному стані (rs1801247). В межах екзону 13 виявлено три алельні варіанти. У двох осіб в межах екзона 15 виявлено мутацію c.3402delC. Відповідно до отриманих результатів секвенування екзона 10 гена ATP7B, виявлено міссенс заміну c.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 екзона 3 гена ATP7B в чотирьох осіб виявлено однонуклеотидний поліморфізм c.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 c.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 c.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.

## Реферат (англ.)

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 improving the detection of cases 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 diagnosis 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 were also established. The first stage of the dissertation work was to establish the frequency of ATP7B, HFE, UGT1A1 gene mutations among practically healthy individuals and among individuals with idiopathic hepatobiliary disorders. 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, 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, the frequency of heterozygous carriers of the c. 845G>C of the HFE gene in the total sample – 1:40 (2.5%). Every fourth person was a heterozygous carrier of the p.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%). So, 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 in 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 – r.Glu770Argfs. In three of them, the mutation was in the compound heterozygous state with the major mutation p.3207C>A. In one patient, after sequencing the entire gene sequence and detection of large deletions and duplications (MLPA), only the c.2304dupC mutation was detected. One patient was found to have 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, a replacement of adenine for cytosine was found at position 3011 (c.3011A>C). 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 amino acid sequences in the protein and is interpreted in 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, a missense substitution c was detected.2495A>G in the heterozygous state in 6 patients, and in 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. No differences from the reference sequence were found 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 - replacement of the amino acid valine with leucine at position 456 in the heterozygous state, in three - in the homozygous state, was detected in four individuals. A variant in exon 4 c.1551C>T, 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 exonic sequences of the ATP7B gene one or more single-nucleotide polymorphisms of neutral value were detected.

---

**Голова спеціалізованої вченої ради:** Осташ Богдан Омелянович (д. б. н., професор, 03.00.22)

**Головуючий на засіданні:** Осташ Богдан Омелянович (д. б. н., професор, 03.00.22)

---

Підпис

М.П.

**Відповідальний за подання документів:** Жак О. В. (Тел.: 380636075982)

---

Підпис

**Керівник відділу реєстрації наукової діяльності  
УкрІНТЕІ**



Юрченко Т.А.