

GENETIC POLYMORPHISM IN THE PHENOBARBITAL-RESPONSIVE ENHANCER MODULE OF THE UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASE 1A1 GENE IN VIETNAMESE

Hoang Thi Thu Yen¹, Hua Nguyet Mai¹, Nguyen Dang Ton^{2,3}, Nguyen Hai Ha^{2,3*}

¹TNU - University of Sciences, ²Institute of Genome Research - VAST

³Graduate University of Science and Technology - VAST

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Received: 18/01/2021</p> <p>Revised: 18/3/2021</p> <p>Published: 06/4/2021</p>	<p>UDP glucosyltransferase 1 family polypeptide A1 (UGT1A1) is the enzyme in the liver that is responsible for bilirubin glucuronidation. Mutation altering nucleotide sequence in the coding region, enhancermodule or promoter region can affect enzyme function or structure. UGT1A1*60 is a T-to-G substitution at nucleotide -3279 in the phenobarbital-responsive enhancer module of UGT1A1 gene, which reduces the transcription activity of UGT1A1 gene. To determine the present of UGT1A1*60 variant in Vietnamese population, we used the direct sequencing method of PBREM fragment of <i>UTG1A1</i> gene to determine the genotype and its allele frequency in 96 individuals of healthy Kinh ethnic group. The results showed that <i>UTG1A1</i>*60 variant is present in homozygous and heterozygous genotypes with frequencies of 45.833% (N = 44) and 9.375%, respectively. The allele frequency of the <i>UTG1A1</i>*60 variant in the population was quite high (32.292%). This study contributes to the understanding of the genetic characteristics of the UGT1A1 gene in the Vietnamese population and shows a remarkable role of this variant in the hyperbilirubinemia patients.</p>
<p>KEYWORDS</p> <p>Bilirubin</p> <p>Phenobarbital</p> <p>UDP-glycosyltransferase</p> <p>UDP Glucuronosyltransferase 1</p> <p>Family polypeptide A1 (UTG1A1)</p> <p><i>UTG1A</i> gene</p> <p><i>UTG1A1</i>*60</p>	

ĐA HÌNH DI TRUYỀN MÔ ĐUN TĂNG CƯỜNG PHẢN ỨNG VỚI PHENOBARBITAL CỦA GEN MÃ HÓA UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASE 1A1 Ở NGƯỜI VIỆT NAM

Hoàng Thị Thu Yên¹, Hứa Nguyệt Mai¹, Nguyễn Đăng Tôn^{2,3}, Nguyễn Hải Hà^{2,3*}

¹Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

²Viện Nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 18/01/2021</p> <p>Ngày hoàn thiện: 18/3/2021</p> <p>Ngày đăng: 06/4/2021</p>	<p>UDP glucuronosyltransferase 1 family polypeptide A1 (UGT1A1) là enzyme trong gan chịu trách nhiệm glucuronid hóa bilirubin. Sự biến đổi trình tự nucleotide trong vùng mã hóa, mô đun tăng cường hoặc vùng điều khiển có thể ảnh hưởng đến cấu trúc hoặc chức năng của enzyme. <i>UGT1A1</i>*60 do sự thay thế nucleotide T thành G ở vị trí -3279 trong mô đun tăng cường phản ứng với phenobarbital (PBREM) của gen <i>UGT1A1</i>, gây giảm hoạt động phiên mã của gen này. Để xác định sự hiện diện của biến thể <i>UTG1A1</i>*60 ở người Việt Nam, chúng tôi đã sử dụng phương pháp giải trình tự trực tiếp đoạn PBREM để xác định kiểu gen và tần số của nó trên 96 người dân tộc Kinh khỏe mạnh. Kết quả cho thấy, biến thể <i>UTG1A1</i>*60 xuất hiện ở dạng dị hợp và đồng hợp với tần số tương ứng là 45,833% (N = 44) và 9,375% (N = 9). Tần số alen của <i>UTG1A1</i>*60 trong quần thể tương đối lớn (32,292%). Nghiên cứu này góp phần hiểu rõ đặc điểm di truyền của gen <i>UTG1A1</i> trong quần thể người Việt Nam và cho thấy vai trò đáng lưu ý của biến thể này ở các đối tượng tăng bilirubin máu.</p>
<p>TỪ KHÓA</p> <p>Bilirubin</p> <p>Phenobarbital</p> <p>UDP-glycosyltransferase</p> <p>UDP Glucuronosyltransferase 1</p> <p>Family Polypeptide A1 (UTG1A1)</p> <p>Gen <i>UTG1A</i></p> <p><i>UTG1A1</i>*60</p>	

* Corresponding author. Email: nguyenhaiha@igr.ac.vn

1. Mở đầu

Một số enzyme ở người có khả năng biến đổi sinh học các chất nội sinh và ngoại sinh. Các biến đổi sinh học bởi enzyme được phân thành hai loại phản ứng, phản ứng pha I và pha II. Pha I là các phản ứng oxy hóa, khử, thủy phân và hydrat hóa, trong khi các phản ứng pha II được gọi là phản ứng liên hợp bao gồm glucuronid hóa, sulphat hóa, acetyl hóa, methyl hóa... Sự biến đổi sinh học liên hợp dẫn đến sự gia tăng tính ưa nước của hợp chất thúc đẩy sự bài tiết hoặc tích tụ chất chuyển hóa độc hại trong cơ thể. Glucuronid hóa là một trong những con đường quan trọng nhất của biến đổi sinh học liên hợp pha II và chuyển hóa thuốc ở người [1]. UDP Glucuronosyltransferase 1 Family polypeptide A1 (UGT1A1) có vai trò quan trọng trong việc chuyển hoá loại bỏ các chất độc hại ngoại sinh và nội sinh, được biết đến nhiều nhất với vai trò loại bỏ cơ chất nội sinh bilirubin [2], [3]. Bilirubin là một chất thải màu vàng được tạo ra trong quá trình dị hóa heme, một thành phần của huyết sắc tố. Khi các tế bào hồng cầu lão hoá hoặc hư hỏng sẽ bị phá vỡ trong lá lách, chúng là huyết sắc tố được phân hủy thành heme, sau đó được chuyển thành bilirubin. UGT1A1 chuyển đổi dạng độc hại, không hòa tan của bilirubin (bilirubin không liên hợp) thành dạng không độc hại của nó (bilirubin liên hợp) bằng cách liên hợp bilirubin với axit glucuronic. Sau đó, bilirubin liên hợp ưa nước có thể được bài tiết qua mật hoặc phân. Tăng bilirubin máu là kết quả của việc tăng bilirubin không liên hợp không tan trong nước trong gan khi không có rối loạn chức năng gan hoặc tan máu [4]. Biểu hiện lâm sàng phổ biến ở bệnh nhân tăng bilirubin máu là vàng da, vàng da có thể nhẹ ở hội chứng Gilbert, hoặc nặng ở hội chứng Crigler-Najjar (Crigler-Najjar I - CNI và Crigler-Najjar II - CNII). Bệnh nhân CNI, vàng da biểu hiện rõ ngay từ khi mới sinh và tích tụ dần dần gây nguy cơ mắc chứng tổn thương não do vàng da sơ sinh (kernicterus) [5].

UGT1A1 thuộc họ UDP Glucuronosyltransferase 1 Family (UGT1) siêu họ UDP Glucuronosyltransferase (UGT), được mã hóa bởi gen *UGT1A* (UDP Glucuronosyltransferase 1 Family). Gen *UGT1A* nằm trên nhiễm sắc thể số 2, tại vị trí 2q37.1 với kích thước 13.052 base, một trong các bản phiên mã của gen *UGT1A* mã hóa cho UGT1A1 [1], [6]. UGT1A1 là enzyme duy nhất trong gan glucuronid hóa bilirubin. Một số đa hình trình tự nucleotide của gen trong vùng mã hóa, mô đun tăng cường hoặc vùng điều khiển dẫn đến cấu trúc hoặc chức năng của enzyme UGT1A1 thay đổi, có thể dẫn đến giảm hoặc mất hẳn quá trình glucuronid hóa và gây ra các tác động lâm sàng [7]. Phổ của các biến thể của UGT1A1 trong tăng bilirubin máu khác nhau rõ rệt giữa các nhóm dân tộc khác nhau. Biến thể *UGT1A1*6* (211G> A) ở exon 1, phổ biến ở dân số châu Á, một số tộc người Trung Quốc, Nhật Bản, *UGT1A1*6* có tần số từ 14 - 45% [8]-[12]. *UGT1A1*6* đồng hợp tử làm giảm hoạt động của enzyme UGT1A1, có thể gây ra hội chứng Gilbert và vàng da sơ sinh kéo dài [8], [13]-[15]. Biến thể được biết đến nhiều nhất là *UGT1A1*28*, phổ biến ở các nước phương Tây và có trình tự (TA)₇TAA ở promoter [16], [17]. Dữ liệu nghiên cứu cho thấy rằng kiểu gen dị hợp tử chứa 1 alen **28* làm giảm khoảng 35% hoạt động phiên mã của gen và kiểu gen đồng hợp tử alen **28* làm giảm khoảng 70% [18], [19]. Trong quần thể người da trắng và người Mỹ gốc Phi, biến thể *UGT1A1*28* là một nguyên nhân phổ biến của hội chứng Gilbert, CNI và CNII [20], [21].

Vùng điều khiển của gen mã hóa UGT1A1 có trình tự tăng cường (enhancer) đáp ứng với thuốc phenobarbital (Phenobarbital responsive module – PBREM in the distal enhancer element). Phenobarbital là thuốc chống co giật được sử dụng riêng hoặc với các loại thuốc khác để kiểm soát co giật. Người mẹ mang thai và trẻ sơ sinh vàng da sinh lý sử dụng phenobarbital đã được chứng minh là làm giảm 50% nồng độ bilirubin tổng trong huyết thanh [22]. Phenobarbital cảm ứng sự biểu hiện của gen dẫn đến hoạt động của UGT1A1 tăng. Biến thể *UGT1A1*60* (-3279T>G) thuộc PBREM, làm giảm 60% hoạt động phiên mã tạo UGT1A1 [23]. Nhiều nghiên cứu đã phát hiện, *UGT1A1*60* là đột biến phổ biến ở các bệnh nhân và trẻ sơ sinh tăng bilirubin máu. Tần số alen *UGT1A1*60* ở trẻ sơ sinh châu Á tăng bilirubin máu là tương đối lớn, dao động từ 30,23 – 97,62% [24]-[29]. Sự khác biệt biến thể *UGT1A1*60* cũng được chỉ ra ở một số dân tộc

người Trung Quốc [11]. Năm 2019, Mi và đtg. nghiên cứu đa hình biến thể UGT1A1 ở bệnh nhân người Trung Quốc cho thấy, 85% (47/55) chứa các biến thể *UGT1A1**60 ở bệnh nhân GS [7].

Sự khác biệt về tần suất các biến thể alen của UGT1A1 trong các quần thể dân tộc khác nhau và ở các bệnh nhân tăng bilirubin máu cho thấy ý nghĩa lâm sàng có thể phụ thuộc vào chủng tộc. Ở Việt Nam, Nguyen và đtg. (2020) bước đầu kiểm tra sự xuất hiện của các biến thể *UGT1A1**28 và *6 trên các bệnh nhân trẻ sơ sinh vàng da tăng bilirubin máu [30]. Nghiên cứu trước đây của chúng tôi đã khảo sát đa hình kiểu gen *UGT1A1**28 trên vùng điều khiển của gen ở người Việt Nam [31]. Tuy nhiên, vẫn chưa có công bố chính thức nào về sự xuất hiện của biến thể *UGT1A1**60 ở người Việt Nam khỏe mạnh cho đến nay. Do đó, chúng tôi tiếp tục tiến hành khảo sát sự hiện diện của biến thể *UTG1A1**60 ở nhóm người dân tộc Kinh, chiếm hơn 90% dân số của Việt Nam, để tìm hiểu về đặc điểm di truyền của dân tộc liên quan đến các hội chứng tăng bilirubin máu khi xem xét điều trị bằng phenobarbital.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Chín mươi sáu mẫu DNA tổng số của người dân tộc Kinh khỏe mạnh (48 nam, 48 nữ) lưu giữ tại Viện Nghiên cứu hệ gen, được sử dụng cho nghiên cứu đa hình tại PBREM của gen *UTG1A1*. Nghiên cứu này đã thông qua Hội đồng Y đức của Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thiết kế môi đặc hiệu và PCR khuếch đại vùng gen quan tâm

Cặp môi khuếch đại PBREM của gen mã hóa UGT1A1 được thiết kế dựa trên trình tự gen mang mã số NG_033238.1 trên Ngân hàng gen (GenBank). Các cặp môi này được tổng hợp và cung cấp bởi công ty Sinh hóa Phù Sa (Cần Thơ, Việt Nam) và có trình tự như sau: môi xuôi gtPBREM_F: 5'-CTGGGGATAAACATGGGATG-3' và môi ngược gtPBREM_R: 5'-CACCACCACTTCTGGAACCT-3'. Sản phẩm khuếch đại đoạn tăng cường gen mã hóa UGT1A1 có kích thước dự kiến 606 bp.

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích của mỗi phản ứng là 20 μ L bao gồm: 10 μ L Taq 2X master mix (New England BioLabs, Anh); 0,5 μ L mỗi loại môi (10 pM); 1 uL DNA (20 ng/ μ L) và 8 μ L nước. Chu trình nhiệt: 95 °C trong 2 phút, 38 chu kỳ (95 °C 30 giây, 60 °C 30 giây, 68 °C 60 giây), 68 °C trong 5 phút, sau đó giữ ở 4 °C. Sản phẩm PCR được phát hiện bằng điện di trên gel agarose 0,8%, nhuộm ethidium bromide và quan sát dưới ánh sáng UV.

2.2.2. Giải trình tự đoạn PBREM của gen mã hóa *UTG1A1*

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được đọc trình tự cả hai chiều xuôi và ngược bằng bộ sinh phẩm Bigdye Terminator V3.1 trên máy ABI PRISM 3500 Genetics Analyzer (Applied Biosystems, Hoa Kỳ). Kết quả thu được sau đó được phân tích bằng các phần mềm tin sinh học Blast và BioEdit.

2.2.3. Phân tích kết quả và xử lý dữ liệu

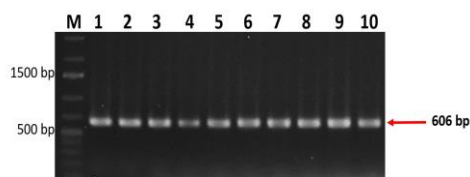
Trình tự nucleotide tham chiếu PBREM của gen mã hóa *UTG1A1* được lấy từ cơ sở dữ liệu nucleotide của NCBI mang mã số NG_033238.1. Các trình tự nucleotide của mẫu so sánh với trình tự tham chiếu bằng phần mềm BioEdit để xác định nucleotide tại vị trí quan tâm. Các thuật toán thống kê được thực hiện trên Microsoft Excel 2010. Định luật cân bằng Hardy Weinberg được áp dụng để đánh giá tần số kiểu gen của quần thể. Tiêu chuẩn chi bình phương (χ^2) được áp dụng để so sánh tần số alen trong nghiên cứu này với các quần thể được công bố khác và để đánh giá trạng thái cân bằng của quần thể so với định luật Hardy Weinberg. Phân bố chuẩn được dùng để ước lượng khoảng tin cậy cho tỷ lệ các alen. Tất cả các phép xác suất thống kê dùng trong

nghiên cứu đều được tiến hành với độ tin cậy 95% (95% CI), giá trị p nhỏ hơn 0,05 được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và thảo luận

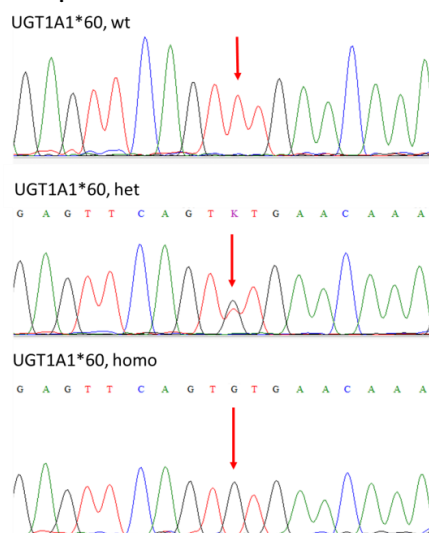
3.1. PCR và giải trình tự đoạn PBREM của gen mã hóa *UTG1A1*

Trong nghiên cứu này, các mẫu DNA tổng số từ 96 mẫu máu người dân tộc Kinh được sử dụng làm khuôn khuếch đại đoạn gen đích với cặp mồi dựa trên trình tự gen đã công bố trên Genbank (NG_033238.1). Sản phẩm của phản ứng PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8%. Kết quả thu được thể hiện trên hình 1 cho thấy, sản phẩm PCR khuếch đại đoạn tăng cường thu được có kích thước khoảng 600 bp, kích thước này phù hợp theo tính toán lý thuyết. Tiếp theo, sản phẩm PCR được tinh sạch để giải trình tự.



Hình 1. Hình ảnh điện di kết quả PCR khuếch đại đoạn PBREM gen *UTG1A1*

M: Marker DNA 1 kb plus (Thermo Scientific); 1-10: sản phẩm PCR khuếch đại đoạn tăng cường của gen mã hóa *UTG1A1* của một mẫu trong nghiên cứu



Hình 2. Kết quả giải trình tự đoạn PBREM gen mã hóa *UGT1A1*

*UGT1A1**60, wt: đồng hợp tử kiểu dại (TT),
*UGT1A1**60, het: dị hợp tử *UGT1A1**60 (TG),
*UGT1A1**60, homo: đồng hợp tử đột biến *UGT1A1**60 (GG)

Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự hai chiều xuôi và ngược cho tổng số 96 mẫu. Phân tích trình tự thu được, đoạn PBREM của gen mã hóa *UGT1A1* có xuất hiện 3 kiểu gen gồm kiểu gen đồng hợp tử kiểu dại (TT); kiểu gen dị hợp tử (TG) và đồng hợp tử đột biến (GG). Kết quả xác định trình tự đại diện của 3 kiểu gen được trình bày trên hình 2.

3.2. Phân tích tần số kiểu gen và tần số alen *UGT1A1**60 ở người dân tộc Kinh

Từ kết quả xác định trình tự đoạn tăng cường của gen mã hóa *UGT1A1* từ 96 mẫu nghiên cứu, chúng tôi tiến hành phân tích tần số kiểu gen dựa trên sự xuất hiện của alen *UGT1A1**1 (*1) và *UGT1A1**60 (*60). Kết quả tần số kiểu gen và alen *UGT1A1**60 của 96 mẫu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, gen mã hóa *UTG1A1* có kiểu gen dị hợp tử *1/*60 với tỷ lệ cao nhất 45,833% (N = 44), kiểu gen đồng hợp tử kiểu dại *1/*1 44,792% (N = 43). Kiểu gen đồng hợp tử kiểu dại và dị hợp tử *60 có tỷ lệ gần giống nhau, kiểu gen đồng hợp tử *60/*60 xuất hiện với tỷ lệ thấp nhất 9,375% với 9 trường hợp. Như vậy, trong nhóm nghiên cứu có số cá thể mang ít nhất một alen biến thể *60 là tương đối lớn, chiếm 55,208% cá thể (N = 53). Dựa trên tần số kiểu gen của mẫu nghiên cứu, chúng tôi đã xác định được tần số alen *60 là 32,292%, từ đó kiểm định với định luật cân

bảng di truyền trong quần thể Hardy Weinberg cho kết quả tần số alen *60 có tuân theo định luật này với $\chi^2 = 0,183$ và $p = 0,906$. Điều này chứng tỏ, tần số alen *60 đã được di truyền ổn định trong quần thể và nhóm mẫu nghiên cứu đủ đại diện cho quần thể người Việt Nam.

Bảng 1. Tần số kiểu gen và alen UGT1A1*60 của gen mã hóa UGT1A1 trên người dân tộc Kinh Việt Nam

Tần số	Kiểu gen (N = 96)			Alen (n = 192)	
	*1/*1	*1/*60	*60/*60	*1	*60
Nghiên cứu này	43 (44,792%)	44 (45,833%)	9 (9,375%)	130 (67,708%)	62 (32,292%)
Hardy- Weinberg	73,788 %	27,044 %	1,988 %		
Kiểm định Chi bình phương (χ^2)		$\chi^2 = 0,183$		$p = 0,906$	

3.3. So sánh tần số alen UGT1A1*60 của người dân tộc Kinh với các nhóm dân tộc đã được nghiên cứu trên thế giới

Để đánh giá mức độ phổ biến của alen UGT1A1*60 của người Việt Nam với các dân tộc khác, chúng tôi lựa chọn số liệu đã công bố của 13 dân tộc thuộc 5 nước bao gồm: Trung Quốc, Nhật Bản, Bồ Đào Nha, Uzbekistan và Hàn Quốc. Số lượng mẫu nghiên cứu của mỗi nhóm lớn hơn hoặc bằng 30 ($N \geq 30$). Kết quả so sánh được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. So sánh tần số alen UGT1A1*60 đã công bố giữa các dân tộc trên thế giới

TT	Dân tộc/quần thể	Nước	N	Tần số alen *60 (%)	Tài liệu tham khảo	χ^2	p
1	Kinh	Việt Nam	96	32,292			
2	She	Trung Quốc	264	29,167	[11]	0,655	0,418
3	Han		539	32,004		0,006	0,937
4	Dong		273	42,308		5,953	0,015
5	Han	Trung Quốc	80	42,5	[32]	3,905	0,048
6	Da trắng	Bồ Đào Nha	161	44,41	[33]	7,367	0,007
7	Nhật Bản	Nhật Bản	150	25	[34]	3,098	0,078
8	Uzbekistan	Uzbekistan	87	50		12,492	0,0004
9	Akita	Nhật Bản	50	23	[35]	2,311	0,097
10	Kochi		50	27		0,869	0,351
11	Yamaguchi		50	26		1,236	0,266
12	Đài Loan	Trung Quốc	200	35	[26]	0,423	0,515
13	Hàn Quốc	Hàn Quốc	324	26,7	[36]	2,300	0,129

Ghi chú: N: Tổng số mẫu nghiên cứu; χ^2 : Giá trị Chi bình phương; p: mức ý nghĩa thống kê. Với độ tin cậy 95%, $p < 0,05$ thì sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê.

Kết quả phân tích ở bảng 2 đã chỉ ra rằng, sự khác biệt về tần số của biến thể *60 ở các nhóm dân tộc khác nhau có phụ thuộc vào chủng tộc, tần số alen biến thể *60 dân tộc Kinh ở Việt Nam và các nước đã công bố là tương đối lớn, dao động từ 23% - 50%; trong đó dân tộc Akita người Nhật Bản có tần số *60 thấp nhất (23%), người Uzbekistan có tần số *60 cao nhất (50%), người da trắng Bồ Đào Nha đứng thứ 2 (44,41%), tần số alen *60 người Kinh Việt Nam đứng thứ 6 trong 13 dân tộc/ nhóm dân tộc so sánh (32,292%). Trong đó, tần số alen *60 của dân tộc Kinh Việt Nam có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với người Uzbekistan ($p = 0,0004$; $\chi^2 = 12,492$), người Bồ Đào Nha ($p = 0,007$; $\chi^2 = 7,367$), dân tộc Han ($p = 0,048$; $\chi^2 = 3,905$) và dân tộc Dong của Trung Quốc ($p = 0,015$; $\chi^2 = 5,953$). Tuy nhiên, tần số alen *60 ở người Han Trung Quốc có sự sai khác có ý nghĩa thống kê trong hai công bố ($p = 0,0268$; $\chi^2 = 4,9064$).

Với đặc điểm phổ biến ở các dân tộc/nhóm dân tộc trên thế giới cho thấy *60 không phải là một biến thể mới xuất hiện mà đã tồn tại và ổn định qua rất nhiều thế hệ. *60 có thể là một yếu tố dự báo quan trọng về khả năng chuyển hóa bilirubin khi biến thể này làm giảm hoạt động của enzyme UGT1A1 [23]. Đối với các bệnh nhân trẻ sơ sinh tăng bilirubin máu người Ai Cập,

*UTG1A1*60* chiếm 49,2% ở nhóm tăng bilirubin máu và 25,6% ở nhóm đối chứng [28]. Nghiên cứu trên trẻ sơ sinh Malaysia và Đài Loan cũng cho kết quả tần số alen của **60* cao hơn đáng kể ở trẻ sơ sinh tăng bilirubin máu khi so sánh với nhóm đối chứng, tương ứng là 49,24%, 63,202% và 32,86%, 33,75% [26], [29]. Đặc biệt, tỷ lệ biến thể *UTG1A1*60* được phát hiện cao nhất ở trẻ sơ sinh tăng bilirubin máu người Indonesia lên đến 97,63% [27]. Tuy nhiên, cũng có nghiên cứu chỉ ra không có sự khác biệt giữa biến thể này ở trẻ sơ sinh tăng bilirubin máu người Indonesia và nhóm đối chứng, tương ứng 93,33% và 100% [24]. Như vậy, hầu hết các công bố chỉ ra sự khác biệt về tỷ lệ biến thể này giữa nhóm trẻ sơ sinh tăng bilirubin máu người châu Á và đối chứng có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Mi và đtg (2019) ở 55 bệnh nhân GS người Trung Quốc cho thấy **60* là biến thể có tỷ lệ lớn (85%) [7]. Ngoài ra, biến thể *UGT1A1*60* thường đi kèm với biến thể **28*, 91% (21/23) bệnh nhân hội chứng GS đồng hợp tử **60* có biến thể *UGT1A1*28* [7]. Năm 2020, một nhóm nghiên cứu của Việt Nam đã báo cáo tỷ lệ biến thể *UGT1A1*28* ở trẻ sơ sinh tăng bilirubin là 6% và không khác biệt so với trẻ sơ sinh bình thường [30]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ biến thể **60* chúng tôi xác định được ở người dân tộc Kinh là tương đối lớn, 32,292%. Do đó, vai trò của biến thể **60* đối với quá trình điều trị tăng bilirubin máu bằng thuốc phenobarbital tại Việt Nam rất đáng để quan tâm.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã xác định được biến thể *UTG1A1*60* ở nhóm 96 người Kinh Việt Nam có trong kiểu gen dị hợp và đồng hợp với tần số tương ứng là 45,833% (N = 44) và 9,375% (N = 9). Tần số alen của biến thể *UTG1A1*60* trong quần thể là 32,292%, đây là con số tương đối lớn. Do đó, cần tiến hành những nghiên cứu sâu hơn về ảnh hưởng của biến thể gen này ở bệnh nhân Việt Nam.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ về cơ sở vật chất và thiết bị của Viện Nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] G. Steventon, "Uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1," *Xenobiotica*, vol. 50, no. 1, pp. 64-76, 2020.
- [2] GeneCards, "UGT1A1 Gene - UDP Glucuronosyltransferase Family 1 Member A1," 2020. [Online]. Available: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=UGT1A1>. [Accessed Jan. 12, 2021].
- [3] UniProt, "UniProtKB - P22309 (UD11_HUMAN)," 2020. [Online]. Available: <https://www.uniprot.org/uniprot/P22309>. [Accessed Jan. 12, 2021].
- [4] S. Erlinger, I. M. Arias, and D. Dhumeaux, "Inherited disorders of bilirubin transport and conjugation: new insights into molecular mechanisms and consequences," *Gastroenterology*, vol. 146, no. 7, pp. 1625-1638, 2014.
- [5] I. M. Arias, L. M. Gartner, M. Cohen, J. B. Ezzer, and A. J. Levi, "Chronic nonhemolytic unconjugated hyperbilirubinemia with glucuronyl transferase deficiency. Clinical, biochemical, pharmacologic and genetic evidence for heterogeneity," *Am. J. Med.*, vol. 47, no. 3, pp. 395-409, 1969.
- [6] C. N. Sanchez-Dominguez, H. L. Gallardo-Blanco, M. A. Salinas-Santander, and R. Ortiz-Lopez, "Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase: Its role in pharmacogenomics and human disease," *Exp. Ther. Med.*, vol. 16, no. 1, pp. 3-11, 2018.
- [7] X. X. Mi, J. Yan, X. J. Ma, G. L. Zhu, Y. D. Gao, W. J. Yang, X. W. Kong, G. Y. Chen, J. P. Shi, and L. Gong, "Analysis of the UGT1A1 Genotype in Hyperbilirubinemia Patients: Differences in Allele Frequency and Distribution," *Biomed. Res. Int.*, vol. 2019, 2019, Art. no. 6272174, doi: 10.1155/2019/6272174.
- [8] K. Akaba, T. Kimura, A. Sasaki, S. Tanabe, T. Ikegami, M. Hashimoto, H. Umeda, H. Yoshida, K. Umetsu, H. Chiba, I. Yuasa, and K. Hayasaka, "Neonatal hyperbilirubinemia and mutation of the

- bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene: a common missense mutation among Japanese, Koreans and Chinese," *Biochem. Mol. Biol. Int.*, vol. 46, no. 1, pp. 21-26, 1998.
- [9] S. Chen, L. Hua, C. Feng, Q. Mo, M. Wei, Y. Shen, Z. Lin, G. Li, J. Xu, C. Guo, and H. Huang, "Correlation between UGT1A1 gene polymorphism and irinotecan chemotherapy in metastatic colorectal cancer: a study from Guangxi Zhuang," *BMC Gastroenterol*, vol. 20, no. 1, 2020, doi: 10.1186/s12876-020-01227-w.
- [10] R. Shakibi, B. Kamalidehghan, F. Ahmadipour, G. Y. Meng, and M. Houshmand, "Prevalence of the UGT1A1*6 (c.211G>A) Polymorphism and Prediction of Irinotecan Toxicity in Iranian Populations of Different Ethnicities," *Chemotherapy*, vol. 60, no. 5-6, pp. 279-287, 2014.
- [11] A. Zhang, Q. Xing, S. Qin, J. Du, L. Wang, L. Yu, X. Li, L. Xu, M. Xu, G. Feng, and L. He, "Intra-ethnic differences in genetic variants of the UGT-glucuronosyltransferase 1A1 gene in Chinese populations," *Pharmacogenomics J.*, vol. 7, no. 5, pp. 333-338, 2007.
- [12] X. Zhang, X. Meng, Y. Wang, W. Yan, and J. Yang, "Comprehensive analysis of UGT1A1 genetic polymorphisms in Chinese Tibetan and Han populations," *Biochem. Genet.*, vol. 50, no. 11-12, pp. 967-977, 2012.
- [13] M. A. Boyd, P. Srasuebku, K. Ruxrungtham, P. I. Mackenzie, V. Uchaipichat, M. Stek, J. M. Lange, P. Phanuphak, D. A. Cooper, W. Udomuksorn, and J. Q. Miners, "Relationship between hyperbilirubinaemia and UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) polymorphism in adult HIV-infected Thai patients treated with indinavir," *Pharmacogenet Genomics*, vol. 16, no. 5, pp. 321-329, 2006.
- [14] Y. Maruo, K. Nishizawa, H. Sato, Y. Doida, and M. Shimada, "Association of neonatal hyperbilirubinemia with bilirubin UDP-glucuronosyltransferase polymorphism," *Pediatrics*, vol. 103, no. 6, Pt 1, pp. 1224-1227, 1999.
- [15] K. Yamamoto, H. Sato, Y. Fujiyama, Y. Doida, and T. Bamba, "Contribution of two missense mutations (G71R and Y486D) of the bilirubin UDP glycosyltransferase (UGT1A1) gene to phenotypes of Gilbert's syndrome and Crigler-Najjar syndrome type II," *Biochim. Biophys. Acta.*, vol. 1406, no. 3, pp. 267-273, 1998.
- [16] P. J. Bosma, "Inherited disorders of bilirubin metabolism," *J. Hepatol.*, vol. 38, no. 1, pp. 107-117, 2003.
- [17] G. Monaghan, M. Ryan, R. Seddon, R. Hume, and B. Burchell, "Genetic variation in bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome," *Lancet*, vol. 347, no. 9001, pp. 578-581, 1996.
- [18] J. M. Barbarino, C. E. Haidar, T. E. Klein, and R. B. Altman, "PharmGKB summary: very important pharmacogene information for UGT1A1," *Pharmacogenet Genomics*, vol. 24, no. 3, pp. 177-183, 2014.
- [19] Y. W. F. Lam and L. H. Cavallari, "Principles of Pharmacogenomics: Pharmacokinetic, Pharmacodynamic, and Clinical Implications," in *Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities in Therapeutic Implementation*, Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2019, pp 1-44
- [20] E. Beutler, T. Gelbart, and A. Demina, "Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism?" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 95, no. 14, pp. 8170-8174, 1998.
- [21] C. Guillemette, "Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes," *Pharmacogenomics J.*, vol. 3, no. 3, pp. 136-158, 2003.
- [22] M. Kaplan, R. J. Wong, and E. Sibley, "Neonatal jaundice and liver disease," in *Neonatal-Perinatal Medicine. Diseases of the Fetus and Infant*. Ed Fanaroff AA. Cleveland, Ohio: Mosby, 2011, pp 1443-1496.
- [23] J. Sugatani, K. Mizushima, M. Osabe, K. Yamakawa, S. Kakizaki, H. Takagi, M. Mori, A. Ikari A, and M. Miwa, "Transcriptional regulation of human UGT1A1 gene expression through distal and proximal promoter motifs: implication of defects in the UGT1A1 gene promoter," *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, vol. 377, no. 4-6, pp. 597-605, 2008.
- [24] R. Amandito, R. Putradista, C. Jikesya, D. Utaminingsih, J. Rusin, R. Rohsiswatmo, and A. Malik, "UGT1A1 gene and neonatal hyperbilirubinemia: a preliminary study from Bengkulu, Indonesia," *BMC Res. Notes*, vol. 11, no. 1, 2018, Art. no. 172, doi: 10.1186/s13104-018-3284-y.
- [25] R. Amandito, R. Rohsiswatmo, E. Carolina, R. Maulida, W. Kresnawati, and A. Malik, "Profiling of UGT1A1(*)6, UGT1A1(*)60, UGT1A1(*)93, and UGT1A1(*)28 Polymorphisms in Indonesian

- Neonates With Hyperbilirubinemia Using Multiplex PCR Sequencing," *Front Pediatr.*, vol. 7, 2019, Art. no. 328, doi: 10.3389/fped.2019.00328.
- [26] Y. Y. Huang, M. J. Huang, S. S. Yang, H. C. Teng, and C. S. Huang, "Variations in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene for the development of unconjugated hyperbilirubinemia in Taiwanese," *Pharmacogenomics*, vol. 9, no. 9, pp. 1229-1235, 2008.
- [27] R. Rohsiswatmo, R. Amandito, A. W. Putri, N. Sartika, and A. Malik, "UGT1A1 gene polymorphisms and jaundice in Indonesian neonates," *Paediatr. Indones.*, vol. 59, no. 3, pp. 150-156, 2019.
- [28] T. H. Tomerak, N. F. Helal, O. G. Shaker, and M. A. Yousef, "Association between the Specific UGT1A1 Promoter Sequence Variant (c-3279T>G) and Unconjugated Neonatal Hyperbilirubinemia," *J. Trop. Pediatr.*, vol. 62, no. 6, pp. 457-463, 2016.
- [29] S. Yusoff, A. Takeuchi, C. Ashi, M. Tsukada, N. H. Ma'amor, B. A. Zilfalil, N. M. Yusoff, T. Nakamura, M. Hirai, I. S. Harahap, Gunadi, M. J. Lee, N. Nishimura, Y. Takaoka, and S. Morikawa, "A polymorphic mutation, c.-3279T>G, in the UGT1A1 promoter is a risk factor for neonatal jaundice in the Malay population," *Pediatr. Res.*, vol. 67, no. 4, pp. 401-406, 2010.
- [30] T. T. Nguyen, W. Zhao, X. Yang, and D. N. Zhong, "The relationship between hyperbilirubinemia and the promoter region and first exon of UGT1A1 gene polymorphisms in Vietnamese newborns," *Pediatr. Res.*, vol. 88, no. 6, pp. 940-944, 2020.
- [31] H. H. Nguyen, T. T. H. Nguyen, B. G. Vu, P. N. Vu, T. T. Y. Hoang, D. T. Nguyen, and T. N. Q. Bach, "Study of UGT1A1*28 genetic polymorphism related to irinotecan response in Kinh Vietnamese," *Vietnam Journal of Biotechnology - Vietnam Academy of Science and Technology*, vol. 18, no. 3, pp. 425-435, 2020.
- [32] A. L. Pasternak, K. R. Crews, K. E. Caudle, C. Smith, D. Pei, C. Cheng, U. Broeckel, A. H. Gaur, J. Hankins, M. V. Relling, and C. E. Haidar, "The impact of the UGT1A1*60 allele on bilirubin serum concentrations," *Pharmacogenomics*, vol. 18, no. 1, pp. 5-16, 2017.
- [33] C. Rodrigues, E. Vieira, R. Santos, J. de Carvalho, A. Santos-Silva, E. Costa, and E. Bronze-da-Rocha, "Impact of UGT1A1 gene variants on total bilirubin levels in Gilbert syndrome patients and in healthy subjects," *Blood Cells Mol. Dis.*, vol. 48, no. 3, pp. 166-172, 2012.
- [34] H. Maeda, S. Hazama, A. Shavkat, K. Okamoto, K. Oba, J. Sakamoto, K. Takahashi, M. Oka, D. Nakamura, R. Tsunedomi, N. Okayama, H. Mishima, and M. Kobayashi, "Differences in UGT1A1, UGT1A7, and UGT1A9 polymorphisms between Uzbek and Japanese populations," *Mol. Diagn. Ther.*, vol. 18, no. 3, pp. 333-342, 2014.
- [35] M. Kobayashi, S. Hazama, K. Takahashi, K. Oba, N. Okayama, M. Nishioka, Y. Hinoda, M. Oka, K. Okamoto, H. Maeda, D. Nakamura, J. Sakamoto, and H. Mishima, "Is there diversity among UGT1A1 polymorphism in Japan?" *World J. Gastrointest Oncol*, vol. 4, no. 7, pp. 170-175, 2012.
- [36] C. S. Ki, K. A. Lee, S. Y. Lee, H. J. Kim, S. S. Cho, J. H. Park, S. Cho, K. M. Sohn, and J. W. Kim, "Haplotype structure of the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene and its relationship to serum total bilirubin concentration in a male Korean population," *Clin. Chem.*, vol. 49, no. 12, pp. 2078-2081, 2003.