

## Мутация с.3207С>А гена *ATP7B* — наиболее частая причина гепатолентикулярной дегенерации в России: частота и причина распространения

Баязутдинова Г.М., Щагина О.А., Поляков А.В.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»,  
115478, Москва, ул. Москворечье, д.1; e-mail: bayazguln@yandex.ru

Самой частой причиной гепатолентикулярной дегенерации (болезни Вильсона—Коновалова, БВК) в Европе является мутация p.His1069Gln (с.3207С>А). В данной работе на основании исследования частот встречаемости мутации p.His1069Gln у российских больных БВК и необследованных жителей РФ определены частота носительства мутации в гене гепатолентикулярной дегенерации, которая составила 1:67 и рассчитана частота заболевания: 1 на 17 740 жителей РФ. Исследование гаплотипа хромосом российских больных с мутацией с.3207С>А по двум микросателлитным маркерам показало наличие общего гаплотипа, что свидетельствует об эффекте основателя.

**Ключевые слова:** *ATP7B*, болезнь Вильсона—Коновалова, гепатолентикулярная дегенерация, эффект основателя, частота носительства, p.His1069Gln, с.3207С>А.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

### The study of common mutation p.H1069Q in *ATP7B* gene in Russian WD-patients

Baiazutdinova G.M., Shchagina O.A., Poliakov A.V.

Federal State Budgetary Institution «Research Center for Medical Genetics», Moscow 115478, e-mail: bayazguln@yandex.ru

The most common WD causing in the patients from Europe is p.H1069Q mutation. The results of study of p.H1069Q mutation in Russian patients and control group by using developed test-system are presented in this investigation. Querying the chromosomal haplotype of Russian patients with p.H1069Q mutation by two micro satellite markers showed a general haplotype which is suggestive of the founder's effect.

**Key words:** WD, *ATP7B*, founder's effect, p.H1069Q in *ATP7B* gene.

#### Введение

Болезнь Вильсона—Коновалова (БВК, гепатолентикулярная дегенерация) (OMIM 277900) — прогрессирующее аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, характеризующееся нарушением метаболизма меди. В основе патогенеза лежит нарушение экскреции меди из организма, что приводит к накоплению этого металла в тканях и к сочетанному поражению паренхиматозных органов (особенно, печени) и головного мозга.

Распространенность БВК по мировым данным составляет 1—9 случаев на 100 000 населения (в среднем 1 на 30 000) [1,2]. Носителем мутации в гене БВК в мире является каждый 60-й—100-й человек. Причиной заболевания являются нарушения в гене *ATP7B*, который кодирует медь-транспортирующую АТФазу Р-типа [1]. На сегодняшний день известно более 800 мутаций в гене *ATP7B* [3].

Спектр мутаций в гене *ATP7B* сильно различается у разных этносов и населения разных стран. Мутация с.3207С>А (p.His1069Gln) является самой частой причиной, обнаруживаемой при БВК в Северной Америке и

Европе [4, 5]. По данным различных исследователей, именно этот вариант является наиболее частой причиной гепатолентикулярной дегенерации и у российских больных [6, 7, 8].

*Целью настоящей работы* явилось определение частоты мутации p.His1069Gln (с.3207С>А) у российских больных гепатолентикулярной дегенерацией и причин распространенности данного варианта, определение частоты носительства БВК у жителей РФ и расчет возможной частоты данной патологии в России.

#### Материалы и методы

Поиск частой мутации с.3207С>А (p.His1069Gln) гена *ATP7B* проведен у 462 неродственных российских пробандов с направляющим диагнозом «болезнь Вильсона—Коновалова». Все больные были направлены на исследование врачами-генетиками из разных регионов Российской Федерации с марта 2006 по декабрь 2016 годов.

Для исследования частоты гетерозиготного носительства мутации с.3207С>А гена *ATP7B* использовали

ДНК 520 необследованных неродственных жителей РФ. Для определения популяционных частот аллелей маркеров, выбранных для изучения происхождения данной мутации, использовали образцы ДНК 60 неродственных жителей РФ, не имеющих в своем генотипе мутации с.3207С>А.

Выделение ДНК из цельной крови проводилось набором реактивов Wizard® Genomic DNA PurificationKit (Promega, США) по протоколам производителей. Выделение ДНК из сухих пятен крови на фильтровальной бумаге проводилось с использованием набора реактивов D1Atomt DNA Prep100 kit (IsogeneLab. Ltd., Россия).

Для быстрой идентификации мутации с.3207С>А в гене *ATP7B* была разработана скрининговая тест-система, в основе которой лежит пробозависимая лигазная реакция с последующей амплификацией (ligation-depend probe amplification). Последовательности проб представлены в табл. 1.

Длина амплифицированных фрагментов составила 82 п.н. в норме и 85 п.н. при мутации.

Лигазная реакция (LPA) для детекции точечной замены с.3207С>А гена *ATP7B* проводилась на амплификаторе МС2 фирмы «ДНК-технология» (Россия) в 2 этапа. На первом этапе оригинальные олигонуклеотиды отжигали с исследуемой денатурированной ДНК в присутствии термостабильной ДНК-лигазы в течение 1 часа при температуре 64°C в объеме 5 мкл реакционной смеси следующего состава: 10–50 нг геномной ДНК; по

0.16–10 фмоль/мкл каждого олигонуклеотида («Евроген», Россия); 0.4 единицы активности Pfu-ДНК-лигазы («Хеликон», Россия), буфер для лигирования (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 20 mM KCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Igepal, 0.01 mM ATP, 1 mM DTT); 20 мкл минерального масла. На втором этапе проводили стандартную ПЦР с олигопраймерами, комплементарными участкам последовательностей, специально синтезированным в олигонуклеотидах. В смесь, в которой предварительно провели лигазную реакцию, добавляли реакционную смесь для ПЦР в объеме 15 мкл (по 0.25 мкМ каждого оригинального олигопраймера (табл. 2); по 200 мкМ каждого нуклеозидтрифосфата («Хеликон», Россия); 1,0 единица активности ДНК-полимеразы Biotaq («Био-Мастер»); буфер для ПЦР (67 mM Tris-HCl; 16.6 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.01% Twin-20; pH 8.8). Отжиг праймеров проводился при температуре 66°C.

Для амплификации исследуемых полиморфных фрагментов ДНК использовался метод ПЦР. Реакцию проводили на термоциклере МС2 фирмы «ДНК-технология» (Россия) в объеме 25 мкл реакционной смеси следующего состава: по 200 мкМ каждого нуклеозидтрифосфата; буфер для ПЦР (67 mM Tris-HCl; 16.6 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.01% Twin-20; pH 8.8); 1 единица активности ДНК-полимеразы Biotaq («БиоМастер»); 0,1–1 мкг геномной ДНК; по 0.25 мкМ каждого оригинального олигопраймера; 20 мкл минерального масла. Праймеры и условия амплификации приведены в табл. 3.

Последовательности проб для идентификации мутации с.3207С>А

Таблица 1

Название	Последовательность
Общая обратная проба WD3207 R	CCCTTGGGCGTGGCAGTCGATGCGATCCGATGCCTTCATG
Проба на норму WD3207 FN	GTTTCGTACGTGAATCGCGGTACCGGAGGCCAGCAGTGAACAC
Проба на мутацию WD3207 FM	GTTTCGTACGTGAATCGCGGTACGTTTCGGAGGCCAGCAGTGAACAA

Последовательности универсальных праймеров для второго этапа реакций LPA

Таблица 2

Название	Последовательность
Forward	GTTTCGTACGTGAATCGCGGTAC
Revers	CATGAAGGCATCGGATCGCATC

Последовательности праймеров для амплификации полиморфных маркеров, фланкирующих ген *ATP7B*

Таблица 3

Фрагмент ДНК	Последовательность праймеров	Температура отжига
D13S316	F TTGTACTCAAACCTTTTAGTATGAGTC R TGAGGTAATGGCTCCTCTAGC	62°C
D13S228	F GAAAGCAATTGACAGGAGTCGAC R GTAGCTGATCTGGTGTCAAC	62°C
STR5	F TTATAGCAGGCTTAATGTAGTATCC R CTTTCCCAGGCCACATAACAGAC	62°C

Дизайн праймеров для маркеров, фланкирующих ген *ATP7B*, олигонуклеотидных проб для лигирования и универсальных праймеров осуществлен в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ, синтез — ЗАО «Евроген» (Москва).

Для анализа электрофоретической подвижности амплифицированных фрагментов, содержащих СА-повторы, использовали 8%-ный гель с соотношением акриламид : бисакриламид — 29:1.3. Визуализация результатов ПЦР после реакции лигирования осуществлялась методом электрофореза в 10% полиакриламидном геле (соотношение акриламида с бисакриламидом — 19:1).

Анализ гаплотипов хромосом, несущих мутацию p.His1069Gln в гене *ATP7B*, проводили с использованием 3 полиморфных маркеров: D13S228, D13S316, STR5 (внутригенный полиморфный маркер). При сравнении частот аллелей на хромосомах с мутацией и в популяционной выборке использовали критерий  $\chi^2$ .

В группе пациентов для оценки неравновесности по сцеплению полиморфных маркеров использовали формулу, предложенную Bengtsson [9]:

$$\delta = (PD - PN)/(1 - PN),$$

где  $\delta$  — мера неравновесности сцепления, PD — частота ассоциированного аллеля среди хромосом с мутацией, PN — частота этого же аллеля среди нормальных хромосом. Аллельную частоту мутации p.His1069Gln и ожидаемое количество больных БВК в выборке пробандов рассчитывали, исходя из распределения Харди—Вайнберга [10]. Сравнение частот аллелей в выборках проводили с использованием критерия  $\chi^2$  или точного критерия Фишера в пакете Statistica Version 10.

## Результаты

В результате анализа образцов ДНК 462 больных, патогенный вариант с.3207C>A (p.His1069Gln) был обнаружен на 203 хромосомах неродственных больных с направительным диагнозом *гепатолентикулярная дегенерация (болезнь Вильсона—Коновалова)*. У 52 из 462 обследованных больных вариант p.His1069Gln был выявлен в гомозиготном состоянии. Еще у 99 пробандов замена гистидина на глутамин в 1069 положении была выявлена на одной из гомологичных хромосом. Основываясь на распределении Харди—Вайнберга, была рассчитана аллельная частота варианта с.3207C>A (p.His1069Gln) у российских больных гепатолентикулярной дегенерацией, которая составила 51%. Таким образом, число больных БВК с мутацией в гене *ATP7B* в нашей выборке составило 198 человек. Из этих больных 26% являются гомозиготами по замене с.3207C>A (p.His1069Gln) и 50% гетерозиготами. Отличие расчетного количества больных и количества пациентов с направляющим диагнозом БВК в данной выборке объясняется трудностью постановки диагноза и дифференциальной диагностики БВК, из-за чего в выборку попадает достаточно большое

количество больных со сходными клиническими симптомами, но другим диагнозом.

Для определения частоты гетерозиготного носительства варианта с.3207C>A (p.His1069Gln) было проведено типирование 520 неродственных необследованных жителей РФ. Замена с.3207C>A (p.His1069Gln) была выявлена у 4 человек в гетерозиготном состоянии. Зная аллельную частоту мутации p.His1069Gln (0,51) и популяционную частоту этой мутации (1:130), определили частоту носительства мутаций в гене БВК, которая составила 1:67 (доверительный интервал от 1:52 до 1:526). Расчетная частота заболевания составляет 1 на 17 740 жителей РФ, что вполне соответствует мировым данным [1, 2].

С целью выяснения причин распространенности варианта p.His1069Gln в гене *ATP7B*, определили аллельные частоты микросателлитных маркеров, лежащих в области гена *ATP7B* на хромосомах с мутацией и хромосомах популяционной выборки. Для выявления возможного гаплотипа основателя были выбраны 2 микросателлитных маркера D13S228 и D13S316, достаточно близко расположенных к гену *ATP7B*, и один внутригенный маркер STR5 (данный маркер оказался неинформативным и не был включен в дальнейший анализ). В данном исследовании был проведен анализ этих маркеров на 102 хромосомах 51 больного с мутацией p.His1069Gln в гомозиготном состоянии. Популяционную выборку составили 120 хромосом 60 необследованных неродственных жителей РФ. Результаты анализа маркеров D13S228 и D13S316 представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, неравновесие по сцеплению с мутацией с.3207C>A (p.His1069Gln) выявлено для аллеля 3 маркера D13S228 и аллеля 3 маркера D13S316, что свидетельствует о том, что именно эти маркеры составляют гаплотип основателя, подвергшийся постепенному размыванию. При определении аллельного состава гаплотипа основателя по маркерам D13S228 и D13S316 основывались на следующем: так как в момент появления в популяции мутации формируется полное неравновесие по сцеплению этой мутации с аллелями маркеров, составляющими гаплотип основателя, и данное неравновесие в результате рекомбинантных событий размывается со временем, в настоящее время аллели из гаплотипа основателя должны характеризоваться максимальной неравновесностью сцепления с локусом заболевания по сравнению с другими аллелями маркеров. Поэтому мы определили значения  $\delta$  и  $\chi^2$ -тест для двупольной таблицы для каждого аллеля исследованных маркеров, и при определении предкового аллеля учитывали наибольшее положительное значение  $\delta$  и наименьшее  $p$ .

В выборке пробандов ( $n = 51$ ), гомозиготных по мутации с.3207C>A, 48 человек оказались гомозиготными носителями аллеля 3 по маркеру D13S316, поэтому для них гаплотипы хромосом с мутацией по двум маркерам определялись однозначно без проведения семейного анализа. Двое из трех оставшихся (гетерозиготных по

Аллельные частоты микросателлитных маркеров из области гена *ATP7B* на хромосомах с мутацией p.His1069Gln (мут.) и хромосомах популяционной выборки (поп.)

Аллель	D13S228						D13S316					
	Мут (102 xp)		Поп (120 xp)		<i>p</i>	$\delta \pm 90\%$ ДИ	Мут (102 xp)		Поп (120 xp)		<i>p</i>	$\delta \pm 90\%$ ДИ
	n	%	n	%			n	%	n	%		
1	16	16	46	38	$1,7 \cdot 10^{-3}$	-0,36±0,22	-	-	8	6,6	0,016	-0,07±0,05
2	8	7,8	42	35	$10^{-4}$	-0,41±0,2	2	2,0	48	40	$10^{-4}$	-0,86±0,24
3	<b>62</b>	<b>61</b>	<b>8</b>	<b>6,6</b>	$<10^{-4}$	<b>0,57±0,1</b>	<b>99</b>	<b>97</b>	<b>17</b>	<b>14</b>	$<10^{-4}$	<b>0,96±0,03</b>
4	15	15	24	20	0,3	-0,06±0,1	1	1,0	13	11	$1,9 \cdot 10^{-3}$	-0,11±0,07
5	1	1,0	-	-	0,45	-0,009±0,02	-	-	28	23	$10^{-4}$	-0,3±0,13
6	-	-	-	-	-	-	-	-	6	5,0	0,016	-0,05±0,04

Примечание. *p* — значения для двустороннего варианта точного критерия Фишера,  $\delta$  — мера неравновесности сцепления аллелей полиморфных маркеров с локусом заболевания, ДИ — доверительный интервал. Полу жирным шрифтом выделены значения частот аллелей, характеризующихся наибольшей неравновесностью сцепления с локусом БВК.

маркеру D13S316) пробандов оказались гомозиготными носителями аллеля 3 по маркеру D13S228. Для них гаплотипы также определялись неоднозначно. И лишь один пробанд оказался гетерозиготен по обоим маркерам, он был исключен из дальнейшего анализа, так как установить гаплотипы хромосом без анализа материала его родителей не представлялось возможным.

Все установленные гаплотипы хромосом ( $n = 100$ ) с мутацией с.3207C>A (p.His1069Gln) представлены в табл. 5.

Таким образом, наиболее вероятным гаплотипом хромосомы основателя по маркерам D13S228 и D13S316 является гаплотип 3-3. Этот вывод вполне коррелирует с данными европейских исследований, где говорится об общем гаплотипе хромосом, несущих мутацию p.His1069Gln, причем, исследовались хромосомы пробандов из различных стран Европы [11].

## Обсуждение

БВК, или гепатолентикулярная дегенерация является аутосомно-рецессивным заболеванием, которое проявляется сочетанием симптомов поражения печени и неврологическими расстройствами, являющихся следствием избыточного накопления меди. БВК может манифестировать как в детском возрасте, так и у взрослых людей. Трудности дифференциальной диагностики на клиническом этапе обследования приводят к тому, что не все больные получают необходимую патогенетическую терапию, следствием чего является развитие тяжелых осложнений болезни.

На сегодняшний день известно около 800 мутаций гена *ATP7B*, являющихся причиной гепатолентикулярной дегенерации [3]. Для азиатов (Китай, Южная Корея, Япония) наиболее частой является мутация

Таблица 5

Гаплотипы хромосом с мутацией p.His1069Gln в гене *ATP7B* по двум микросателлитным локусам

Маркер	D13S228	ATP7B	D13S316
сМ	45,5	45,5	45,5
kb	51,847	52,507	52,679
Число хромосом	Гаплотип		
61	<b>3</b>	<b>m</b>	<b>3</b>
16	1	m	3
14	4	m	3
6	2	m	3
1	2	m	2
1	5	m	3
1	4	m	4

p.R778L, ее доля составляет 14–49%, в зависимости от региона [12]. В Сардинии основной причиной БВК является делеция в промоторной области -441/-427del, которую содержали 92% хромосом в выборке пациентов с данным диагнозом [13]. В Бразилии и Венесуэле самой частой является мутация p.Ala1135Glnfs (с.3402delC) наряду с патогенным вариантом p.His1069Gln (с.3207C>A) [14]. Эта же мутация (p.His1069Gln) является самой частой обнаруживаемой при БВК в гене *ATP7B* в Северной Америке и Европе, в США ее доля составила 40,3% [15, 16]. Аллельная частота данной мутации в Центральной, Восточной и Западной Европе составляет 30–72% [17]. Распространение мутации p.His1069Gln, как полагают, является следствием эффекта основателя. Это подтверждается наличием общего гаплотипа хромосом с мутацией p.His1069Gln у больных из разных европейских стран [18]. Самая высокая частота данной мутации наблюдается в граничащих между собой странах Восточной и Центральной Европы — Польше (72%), Литве (69,2%), Чехии (65,8%), Восточной Германии (63%), Белоруссии (61%), Латвии (52,2%) [18, 19]. По мере продвижения на запад и юг, ее частота постепенно снижается, что, скорее всего, свидетельствует об эффекте основателя из Восточной Европы. Доля этой мутации в Сербии и Хорватии составляет 49%, в Венгрии — 47%, в Австрии — 41%, в Германии — 42%, более редким молекулярным дефектом является данная мутация для англичан — 19% [1, 20]. В данном исследовании установлено, что на территории РФ самой частой мутацией в гене *ATP7B* также является мутация p.His1069Gln (с.3207C>A). Аллельная частота данного варианта среди больных с гепатолентикулярной дегенерацией составляет 51%. Полученные результаты согласуются с выводами проведенных ранее в РФ исследований молекулярных причин БВК [6, 7, 8].

Определена частота популяционного гетерозиготного носительства данного патогенного варианта, она составила 1:130 жителей РФ. Так как мутация p.His1069Gln является самой частой, обнаруживаемой при БВК у российских пациентов, то начинать молекулярно-генетическую диагностику данного заболевания целесообразно с исследования этого патогенного варианта. С помощью диагностической тест-системы поиска мутации p.His1069Gln у 26% пробандов можно окончательно подтвердить диагноз БВК, а еще у 50% выявить одну мутацию в гене *ATP7B*.

Самая высокая частота мутации p.His1069Gln в гене *ATP7B* наблюдается в странах Восточной Европы и постепенно снижается по мере удаления [12]. Учитывая так же, что в азиатских популяциях данный патогенный вариант не встречается, то представляется возможным предположить, что мутация p.His1069Gln возникла уже после разделения предкового народа на европейскую и азиатскую ветви, которое произошло в послеледниковый период, на рубеже 13–12 тысяч лет до н.э. [21]. Возможно, народы, жившие несколько ты-

сячелетий назад на территории современной Восточной Европы, прошли через «бутылочное горлышко», вследствие многочисленных социально-экономических и климатических потрясений, что привело к «эффекту основателя» мутации p.His1069Gln в гене *ATP7B*. Затем, возможно, мутация распространялась на северо-восток, в том числе и на территорию современной Центральной России. Оценить возраст мутации p.His1069Gln в гене *ATP7B* оказалось невозможным: маркеры D13S228 и D13S316, довольно близко лежащие к гену *ATP7B*, имеют физические координаты 51,847kb и 52,679kb соответственно (сам ген *ATP7B* имеет координаты 52,507kb), но генетические координаты и у маркеров, и у самого локуса БВК одинаковы — 45,5 сМ. Очевидно, что патогенный вариант p.His1069Gln возник в результате очень древнего мутационного события, поэтому так называемое «размытие» гаплотипа основателя наблюдается так близко к гену.

В данной работе на основе молекулярно-генетических данных о частоте встречаемости мутации с.3207C>A (p.His1069Gln) впервые удалось рассчитать частоту носительства гепатолентикулярной дегенерации у населения Российской Федерации (1:67 человек) и частоту болезни у жителей Российской Федерации, которая составила 1 на 17 740 жителей. Таким образом, учитывая численность населения РФ в 2017 году (147 млн чел.), на территории России проживают более 8000 чел., нуждающихся в патогенетической терапии БВКа, способной предотвратить катастрофические последствия патологического накопления меди в тканях.

### Список литературы

- Gollan JL, Gollan TJ. Wilson disease in 1998: genetic, diagnostic and therapeutic aspects. *J Hepatol.* 1998; Suppl 1:28-36.
- Асанов АЮ, Соколов АА, Волгина СЯ и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Вильсона-Коновалова. 2015.
- <http://www.hgmd.cf.ac.uk>.
- DanadeviKuppala, Jie Deng, George J. Brewer et al. Wilson disease mutations in the American Population: Identification of five novel mutations in the *ATP7B*. *The open Hepatology Journal.* 2009;1:1-4.
- Bull PC, Thomas GP, Rommens JM et al. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATP-ase similar to the Menkes gene. *Nat Genet.* 1993; Vol.5:327-337.
- Матвеева ТИ, Заклязьминская ЕВ, Поляков АВ. Молекулярно-генетический анализ болезни Вильсона-Коновалова. *Генетика человека и патология. Сборник научных трудов, 2007;* 8:167.
- Matveeva T, Zaklyazminskaya E, Polyakov A. The molecular-genetic analysis of *ATP7B* gene at the Russian patients with Wilson disease. *Eur J Hum Genet.* 2008; 16:54.
- Metzger ME, Schagina OA. Frequent *ATP7B* gene mutations in Russia Wilson. *Eur J Hum Genet.* 2010; 18:361.

9. Bengtsson BO, Thomson G. Measuring the strength of associations between HLA antigens and diseases. *Tissue Antigens*. 1981;V.18:356-363.
10. Животовский ЛА. Популяционная биометрия. Наука, 1991;78-84.
11. Firneisz G, Lakatos PL, Szalay F. et al. Common mutations of *ATP7B* in Wilson disease patients from Hungary. *Am J Med Genet*. 2002;108(1):23-28.
12. Ferenci P. Regional distribution of mutations of the *ATP7B* gene in patients with Wilson disease: impact on genetic testing. *Hum Genet*. 2006;Vol 120:151-159.
13. Behari M, Pardasani V. Genetics of Wilson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2010;16:639-44.
14. Deguti MM, Genschel J, Cancado EL et al. Wilson disease: novel mutation in the *ATP7B* gene and clinical correlation in Brazilian patients. *Hum Mutat*. 2004;23(4):398.
15. Danadevi Kuppala, Jie Deng, George J. Brewer et al. Wilson disease mutations in the American Population: Identification of five novel mutations in the *ATP7B*. *The open Hepatology Journal*. 2009;1:1-4.
16. Bull PC, Thomas GP, Rommens JM et al. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATP-ase similar to the Menkes gene. *Nat Genet*. 1993;Vol.5:327-337.
17. Folhoffer A, Ferenci P, Csak T et al. Novel mutations of the *ATP7B* gene among 109 Hungarian patients with Wilson's disease. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2007;Vol.19:105-111.
18. Карунас АС, Магжанова АР, Магжанов РВ. и др. Молекулярно-генетическое исследование болезни Вильсона в республике Башкортостан. *Медицинская генетика*, 2009; 8(8):41-48.
19. Figus A, Angius A, Loudianos G et al. Molecular pathology and haplotype analysis of Wilson disease in Mediterranean population. *Am J Hum Genet*. 1995;Vol.57:1318-1324.
20. Coffey AJ, Durkie M, Hague S et al. A genetic study of Wilson's disease in the United Kingdom. *Brain* 2013;136 (5): 1476-1487.
21. Underhill PA, Myres NM, Rootsi S et al. Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplotype R1a. *Eur J Hum Genet*. 2010;18(4):479-484.