



HAL
open science

Polymorphismes alléliques du gène UDP-Glucuronosyltransferase 1A1 dans une population tunisienne

L. Chaouch**, I. Mahjoubi**, I. Louati, R. Mrad, K. Douzi, A. Ghanem, S.
Abbes

► **To cite this version:**

L. Chaouch**, I. Mahjoubi**, I. Louati, R. Mrad, K. Douzi, et al.. Polymorphismes alléliques du gène UDP-Glucuronosyltransferase 1A1 dans une population tunisienne. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 2011, 88 (1-4), pp.71-76. pasteur-00821693

HAL Id: pasteur-00821693

<https://riip.hal.science/pasteur-00821693>

Submitted on 12 May 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

POLYMORPHISMES ALLELIQUES DU GÈNE UDP-GLUCURONOSYLTRANSFERASE 1A1 DANS UNE POPULATION TUNISIENNE

L. CHAOUCH^{1**}, I. MAHJOUBI^{1**}, I. LOUATI², R. MRAD³, K. DOUZI¹,
A. GHANEM⁴ ET S. ABBES^{1*}

¹ Laboratoire d'Hématologie moléculaire et cellulaire, Institut Pasteur de Tunis. Université Tunis El Manar.

² Service de pédiatrie, Hôpital Grombalia.

³ Service de Biochimie, Hôpital Grombalia.

⁴ Service de Biochimie, Centre de traumatologie et des grands brûlés de Ben Arous.

* Auteur correspondant : salem.abbes@pasteur.rns.tn

** Contribution égale

RESUME

Le gène UDP-glucuronosyltransferase 1A1 qui code pour l'enzyme de glucuroconjugaison, UGT1A1 est le siège de plusieurs variations qui peuvent affecter l'activité ou l'expression enzymatique. Ces dernières sont à l'origine de troubles métaboliques liés à la glucuronoconjugaison de la bilirubine tels que le syndrome de Gilbert et le syndrome de Crigler Najjar. Parmi les variations les plus étudiées, on note le polymorphisme de répétition A(TA)_n TAA situé dans la boîte TATA au niveau du promoteur et la mutation biallélique G211A au niveau de l'exon 1. Vue l'importance de ces deux mutations, nous envisageons dans ce travail de déterminer leurs fréquences dans une population saine. Le polymorphisme A(TA)_n TAA montre que le génotype [TA7/TA7] qui a été décrit comme associé à la maladie de Gilbert était rencontré chez 11% de la population étudiée. Ce pourcentage est proche de la valeur décrite dans la population Caucasiennne, estimée à 10%. Concernant le polymorphisme G211A, nos résultats montrent que l'allèle muté est rencontré chez 15.7% de notre population. Cette fréquence s'écarte beaucoup de celle rapportée pour les Caucasiens et les Afro-américains mais elle est similaire à celle rapportée pour les Japonais. L'ensemble de ces résultats suggère que la population Tunisienne semble être hétérogène du point de vue statut mutationnel du gène UGT1A1. En ce qui concerne les origines et la répartition de tels polymorphismes dans notre population, l'étude haplotypique révèle

ABSTRACT

The UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene that encode the enzyme UGT1A1 responsible for glucuronidation undergoes several variations that may affect the enzymatic activity or expression and which are the cause of metabolic disorders related to the glucuronidation of bilirubin, such as Gilbert's syndrome and Crigler Najjar's syndrome. Among the most common variations, there is the repeat polymorphism A (TA) _n TAA in TATA box and biallelic mutation G211A in exon 1. We consider in this work to determine their frequencies in a healthy population.

The polymorphism A (TA) _n TAA showed that genotype [TA7/TA7] was described as being associated with Gilbert's syndrome and was encountered in 11% of the population studied.

This percentage is close to the value described in the Caucasian population, estimated at 10%. Concerning the polymorphism G211A, our results show that the mutated allele is encountered in 15.7% of our study population.

This frequency differs greatly from that reported for Caucasians and Afro-Americans but it is similar to that perceived at the Japanese.

All these results suggest that the Tunisian population appears to be heterogeneous view UGT1A1 gene mutation status. Regarding the origins and distribution of such polymorphisms in our population, the study reveals a high haplotypic heterogeneity and emergence of the particular

une grande hétérogénéité et une émergence particulière de l'haplotype (TA)₆-G considéré comme ancestral. La comparaison de la structure haplotypique générale conduit à l'élaboration d'un arbre hypothétique concernant l'origine et la propagation des différents haplotypes.

Mots clés: *UDP-glucuronosyltransférase 1A1, glucuroconjugaison, bilirubine, syndrome de Gilbert, syndrome de Crigler Najjar, polymorphisme A(TA)_nTAA, polymorphisme G211A, structure haplotypique.*

INTRODUCTION

L'Uridine diphosphoglucuronosyl transférase (UGT) constitue une superfamille de transférases, subdivisée selon l'homologie de leurs structures en 3 familles dénommées (UGT1, UGT2A et UGT2B), toutes impliqués dans les réactions de la phase II du métabolisme des xénobiotiques¹. Elles catalysent les réactions de glucuroconjugaison considérées comme les voies de détoxification puissantes permettant de neutraliser et d'éliminer les substrats toxiques endogènes et exogènes². Chez l'homme un seul gène code pour la totalité des UGT1. Il est localisé sur le bras long du chromosome 2 en position q37 et comprend 16 exons. Un épissage alternatif conduit à 9 isoformes numérotés d'UGT1A1 à UGT1A9 et présentent en commun les 4 derniers exons et diffèrent uniquement par le premier exon². Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'isoforme UGT1A1, une enzyme hépatique, qui catalyse essentiellement la réaction de la glucuroconjugaison de la bilirubine. Cette dernière passe de la forme libre toxique vers une forme conjuguée soluble et non toxique qui sera excrétée par la bile³. Le gène *UGT1A1* est le siège de plusieurs mutations polymorphes à l'origine d'une altération de la fonction de l'enzyme dont les plus répandues sont deux polymorphismes spécifiques de population⁴. Le premier est un polymorphisme de séquence A(TA)_nTAA situé dans la « TATA Box » du promoteur et existe sous 4 formes alléliques selon le nombre de (TA) : UGT1A1*1. (Allèle sauvage, n=6) UGT1A1*36. (n=5), UGT1A1*28. (n=7) et UGT1A1*37. (n=8) ; le deuxième est un polymorphisme de restriction G211A au niveau de l'exon I. D'autre part, il a été rapporté que l'augmentation du nombre de répétition TA (n>6) est associée avec une diminution du taux de l'enzyme UGT1A1 et par conséquent une déficience de conjugaison et une hyperbilirubinémie toxique. Au contraire la diminution des TA (n<6) semble être

haplotype (TA) 6-G considéré ancestral. The comparison of the haplotype structure generally leads to the development of a hypothetical tree of the origin and spread of different haplotypes.

Key words: *UDP-glucuronosyltransferase 1A1, glucuronidation, bilirubin, Gilbert's syndrome, Crigler Najjar's syndrome, polymorphism A(TA)_nTAA, polymorphism G211A, haplotype structure.*

associée avec une amélioration de la conjugaison de la bilirubine⁵. En ce qui concerne le polymorphisme G211A, il a été observé que la forme 211A est associée avec une diminution de l'activité enzymatique UGT1A1^{6,7}. Autrement dit la diminution de TA au niveau du promoteur ou la mutation G211A de l'exon 1 sont associées avec une déficience dans la conjugaison de la bilirubine et donc l'apparition clinique d'ictères connus sous le nom de syndrome de Gilbert et de Crigler Najjar^{7,8,9,10}.

Dans la population Tunisienne et à notre connaissance, aucune données n'est rapportée sur le gène UGT1A1 jusqu'à présent. Nous rapportons la première approche génétique sur ce gène afin de déterminer la prévalence des polymorphismes les plus répandus et qui seraient en association avec les hyperbilirubinémies. Cela servira comme point de départ pour des études de corrélation phénotype/génotype.

POPULATION ETUDIEE

Notre étude a concerné 137 jeunes lycéens en bonne santé (87 filles et 50 garçons) âgés de 19 à 21 ans, recrutés au cours d'une enquête sur les hémoglobinopathies en milieu scolaire. Après consentement, 10 ml de sang sur EDTA ont été prélevés de chaque volontaire. Seuls les individus normaux après numération de la formule sanguine et dosage de la bilirubine étaient retenus pour l'étude du gène UGT1A1.

METHODES

L'extraction de l'ADN est réalisée par la méthode standard au phénol/chloroforme à partir des leucocytes du sang périphérique. L'étude du polymorphisme microsatellitaire A (TA)_nTAA a été réalisée par PCR/Séquençage. La réaction de PCR a été effectuée dans un volume réactionnel de 50µl contenant 150ng d'ADN génomique, 0.2mM de dNTP,

5 pmol de chacune des amorces {(TA)F : TA A C T T G G T G T A T C G A T T G G T et (TA)R : C T T T G C T C C T G C C A G A G G T T }, 1 unité de Taq DNA polymérase (invitrogène, 5U/ μ l) et 2.5 μ l de tampon 10X de PCR, en présence de 1 μ l MgCl₂ 50mM; Les produits de PCR, purifiés par la méthode enzymatique à l'exonucléase I et Shrimp Alcaline Phosphatase (SAP) sont ensuite séquencés à l'aide d'un séquenceur automatique (ABIPRISM 310 DNA sequencer PE, Applied Biosystems, Foster City; USA). Le polymorphisme de restriction G211A a été exploré par PCR / RFLP dans les mêmes conditions de PCR que celles réalisées précédemment avec des amorces différentes F1 : A G A T A C T G T T G A T C C C A G T G et U211R : C T T C A A G G T G T A A A A T G C T C. Les produits de PCR sont ensuite digérés 3 heures à 37°C par l'endonucléase de restriction Ava II dans un volume réactionnel de 20 μ l contenant 0,5 μ l d'Ava II (Proméga, 6U/ μ l), 2 μ l de tampon 10 X, 7,5 μ l d'eau distillée stérile et 10 μ l de produit de PCR. Les produits de digestion sont ensuite visualisés par électro-

phorèse verticale sur gel de polyacrylamide à 8%. Le polymorphisme G211A abolit le site de restriction Ava II, ainsi on obtient une bande de 146pb. En revanche, chez un sujet normal G211G, cet amplicon est coupé en deux fragments de 128 et 18 pb. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le test d'équilibre de Hardy-Weinberg à l'aide du logiciel Arlequin (Version 3.01). Le logiciel SPSS (version 16.0) a été utilisé pour le calcul du test χ^2 .

RESULTATS

Les résultats montrent que notre population est en équilibre de Hardy-Weinberg avec $p > 0.05$. Le séquençage (Figure 1) révèle 5 génotypes différents dérivant de la combinaison deux à deux de 4 allèles de type et de fréquences différentes (Tableau I). Le génotype majoritaire est l'homozygote normal (TA6)/(TA6) 53.29%, quatre autres génotypes sont observés avec des fréquences décroissantes : le (TA6)/(TA7) 34.31%, (TA7)/(TA7) 11%, (TA7)/(TA8) 073%, (TA6)/(TA5) 0.735% (Tableau I).

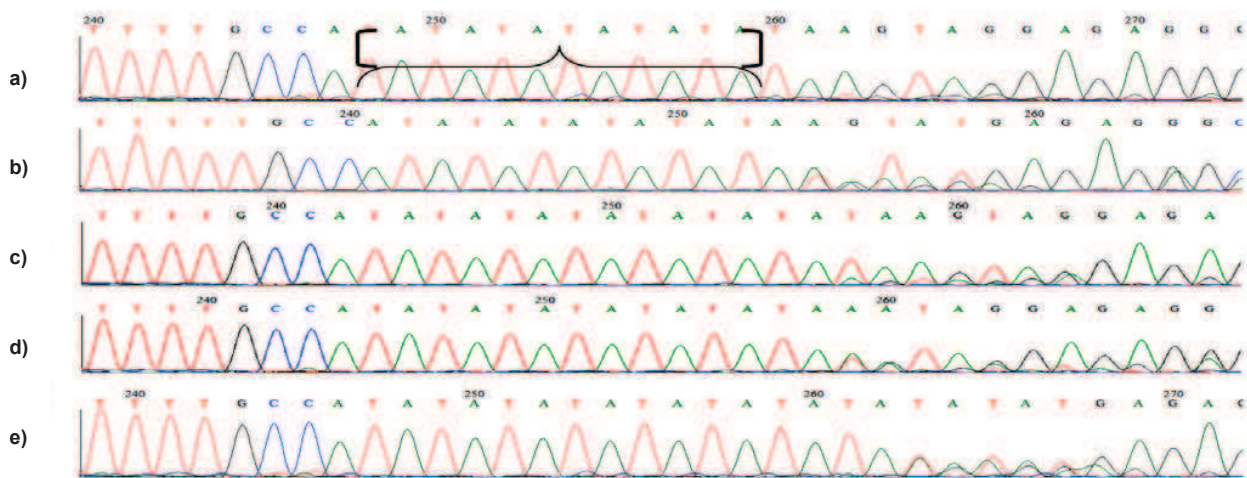


Figure 1: séquençage de la région promotrice contenant le polymorphisme A(TA)_n TAA. (a): sujet homozygote normale (TA)₆/(TA)₆; (b): sujet hétérozygote (TA)₆/(TA)₇; (c): sujet hétérozygote (TA)₆/(TA)₅; (d) homozygote mutée (TA)₇/(TA)₇; (e): sujet hétérozygote (TA)₇/(TA)₈.

Tableau I : Distribution et prévalence génotypique et allélique des polymorphismes A(TA)_n TAA et c.G211A rencontrés dans notre population.

Polymorphisme A(TA) _n TAA				Polymorphisme c.G211A			
Allèles 2N=274		Génotypes N=1		Allèles 2N=274		Génotypes N=137	
Types	Fréquences	Types	fréquences	types	fréquences	types	fréquences
(TA) ₆	0.70	6/6	53.29%	G	0.84	G/G	83.211%
(TA) ₅	0.0036	6/5	0.73%	A	0.157	G/A	2.189%
(TA) ₇	0.285	6/7	34.31%			A/A	14.6%
(TA) ₈	0.0036	7/7	11%				
		7/8	0.73%				

(TA)₆) : allèle sauvage ; (TA)₅, (TA)₇) et (TA)₈) : allèles mutés; G :allèle sauvage ; A : allèle muté

L'analyse du polymorphisme c.G211A révèle la présence de trois génotypes différents visualisés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Figure 2) à savoir GG, G/A et A/A avec des fréquences différentes (Tableau I).

Nos résultats montrent que la majorité des sujets étudiés sont des homozygotes normaux, G/G=114, tandis que les homozygotes mutés A/A sont au nombre de 20 individus, l'hétérozygotie est faible, seulement quatre G/A sont identifiés dans notre population. L'analyse de la répartition allélique du polymorphisme c.G211A révèle l'existence de deux allèles : l'allèle normal G (UGT1A1*1) et l'allèle muté A (UGT1A1*6) de fréquences respectives 0.82 et 0.197. 6 (Tableau I).

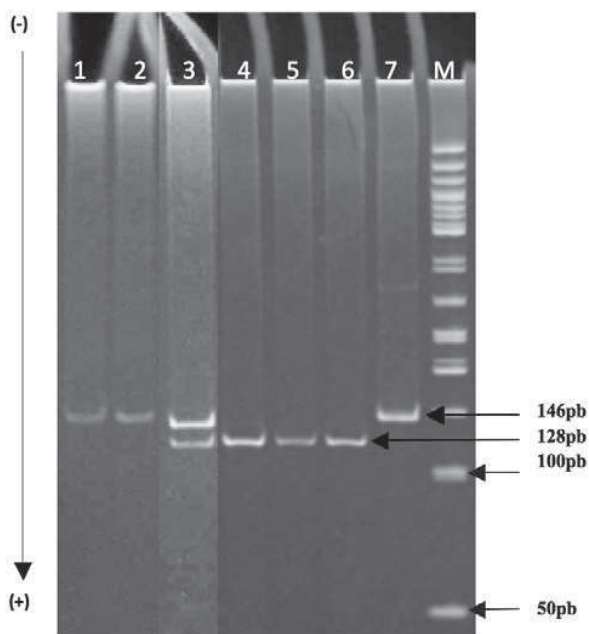


Figure 2: Recherche du polymorphisme c.G211A par RFLP: profil de migration des produits PCR digéré par Avall. Pistes 1 et 2 : sujets homozygotes mutés, piste 3 : sujet hétérozygote, piste 4, 5 et 6 : sujets homozygotes sauvages et piste 7: produit de PCR non digéré. M : marqueur de taille 50pb.

Tableau II : Répartition des six haplotypes rencontrés dans notre population.

Haplotypes	Nombre 274	Pourcentage (%)
TA6-G	185	67.518
TA6-A	9	3.284
TA5-A	1	0.364
TA7-G	46	16.788
TA7-A	32	11.678
TA8-A	1	0.364

L'alignement haplotypique basé sur l'homozygotie des polymorphismes pour les deux sites étudiés révèle 8 haplotypes différents (tableau II). On note la prédominance de l'haplotype (TA)₆-G avec une proportion de 67%. D'autre part, les haplotypes (TA)₇-G et (TA)₇-A apparaissent avec des fréquences moins importantes qui sont respectivement 16,788% et 11,678%. D'autres haplotypes sont rencontrés avec une plus faible fréquence.

DISCUSSION

Les polymorphismes A(TA)_nTAA et c.G211A ont fait l'objet de plusieurs études dans différentes populations impliquant leur association avec une hyperbilirubinémie⁵ et l'apparition de lithiase pigmentaire^{11,12,13}. Dans la population Tunisienne aucune étude de ce genre n'a été rapportée jusqu'à présent. Notre travail constitue, à notre connaissance, la première étude dans notre pays voire même en Afrique du Nord. Il s'agit ici d'une approche préliminaire dans laquelle nous cherchons à évaluer la prévalence des deux polymorphismes dans une population saine afin d'en dresser le profil avant d'aborder des études sur les malades.

Concernant le polymorphisme du promoteur, le variant le plus rencontré dans plusieurs populations est celui présentant la répétition normale (TA)₆. Nos résultats concordent avec ceux rapportés dans des populations européennes¹⁴ et asiatiques^{15,16}. L'homozygote muté (TA)₇/(TA)₇ qui semble être en association avec une hyperbilirubinémie est observé avec des fréquences de 0.13 dans des populations caucasiennes et de 0.1 chez les personnes d'origine africaine^{17,18}. Dans la population Tunisienne ce génotype est également présent avec une fréquence similaire de l'ordre de 0.11 D'autres génotypes hétérozygotes sont également observés avec une fréquence plus faible mais ne constituent pas actuellement une spécifié de population. L'homozygotie (TA)₇/(TA)₇ par contre, possède une signification du fait de sa relation avec l'apparition de la maladie de Gilbert. En effet, 17 % de la maladie de Gilbert semble être en association avec une homozygotie (TA)₇ dans diverses populations caucasiennes, afro-américaines et japonaise¹⁴. Dans notre population cette hypothèse mérite d'être vérifiée, un travail en cours pourrait donner les premières conclusions. Les bases moléculaires de la maladie de Gilbert, en relation avec un déterminant génétique unique le (TA)₇ stipule que ce polymorphisme est très ancien et semble être maintenus à travers les générations par un ou plusieurs facteurs que nous ignorons pour le moment. Il est difficile,

Tableau III : Distribution génotypique et allélique entre les différents groupes ethniques.

Position	Groupes ethniques												P (χ^2 Test)
	Changement		Afro-américains N=149		Caucasiens N=147		Japonais N=150		Tunisiens N=137				
Nucléotidique	Protéique	Nb Het/ Hom	Fréquence allélique	Nb Het/ Hom	Fréquence allélique	Nb Het/ Hom	Fréquence allélique	Nb Het/ Hom	Fréquence allélique	Nb Het/ Hom	Fréquence allélique		
TATA Box	(TA5)	13/0	0.044	5/0	0.017	0/0	0.00	0/1	0.0036			<0.0001	
	(TA6)	69/32	0.446	77/48	0.588	23/24	0.903	48/73	0.70				
	(TA7)	65/34	0.446	78/18	0.388	23/3	0.097	48/15	0.285				
	(TA8)	17/1	0.064	2/0	0.007	0/0	0.00	0/1	0.0036				
211	G>A	0/0	0.00	2/0	0.007	35/6	0.157					<0.0001	

P = indice de significativité; Het : génotypes hétérozygotes, Hom : Génotype homozygote. (TA6) : Allèle sauvage ; (TA5),(TA7) et (TA8) : Allèles mutés

d'imaginer que ce polymorphisme appartienne à un seul haplotype et qu'il soit répandu dans le monde à travers les migrations de populations. Des données haplotypiques plus grandes effectuées sur plusieurs populations donneraient une réponse satisfaisante. Le polymorphisme c.G211A est fréquent dans les populations d'Asie orientale avec une fréquence allélique d'environ 0.12 ce qui réduit la fonction catalytique de l'enzyme UGT1A1 de 60% environ chez les homozygotes et 32% chez les hétérozygotes^{15, 19, 20}. Ce polymorphisme est décrit comme la cause du syndrome de Gilbert chez les asiatiques est très rare dans les populations caucasiennes et afro-américaines¹⁸. En revanche, il est rapporté chez les japonais avec une fréquence allélique allant de 0.15 à 0.19^{15, 18, 19, 20}. Dans notre population la majorité des sujets étudiés sont homozygotes normaux avec une fréquence génotypique de 0.83. Le génotype muté existe également à l'état homozygote et hétérozygote. Serait-il en rapport avec une maladie de Gilbert sous-jacente?

Quand on a voulu situer le profil génétique des deux polymorphismes étudiés dans la population Tunisienne par rapport aux autres populations¹⁸, on a trouvé que la comparaison des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes A(TA)nTAA et c.G211A entre les différents groupes ethniques a montré une différence significative $p < 0.0001$ comme le montre le tableau III. En ce qui concerne les origines et la variabilité de tels polymorphismes dans notre population nous notons une grande hétérogénéité haplotypique et une dominance particulière de l'haplotype sauvage (TA)₆-G considéré comme ancestral. La comparaison de la structure haplotypique générale conduit à l'élaboration d'un arbre hypothétique concernant l'origine des différents haplotypes. En effet, il apparaît que le motif ancestral (TA)₆-G a conduit par insertion à (TA)₇-G lequel par mutation G211A a conduit au motif (TA)₇-A. Ce dernier aurait donné au départ l'haplotype (TA)₆-A qui est à l'origine (par délétion) de l'haplotype (TA)₅-A. Le (TA)₇-A aurait subi une deuxième mutation par insertion conduisant à l'haplotype (TA)₈-A tel que présenté par l'arbre généalogique de la figure 3.

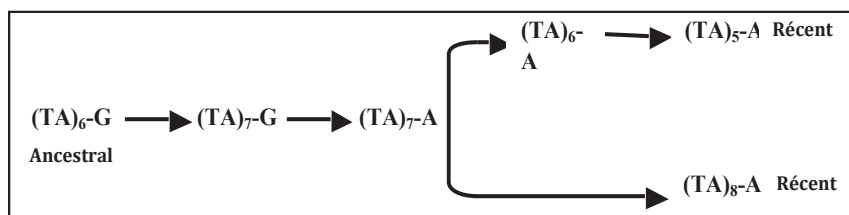


Figure 3: Hypothèse généalogique de différents haplotypes rencontrés dans notre population selon le gradient de fréquence. (TA)₆-G > (TA)₇-G > (TA)₇-A > (TA)₆-A > (TA)₅-A = (TA)₈-A

REMERCIEMENTS

Cet article a fait l'objet du soutien financier du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique de Tunisie (LR 05 SP 04).

REFERENCES

- 1- **P.I. Mackenzie, M. Beaulieu, E. Lévesque, A. Tchémof, B. Beatty, A. Bélanger et D.W. Hum** (1996). Chromosomal localization, structure and regulation of the UGT2 B17 gene, encoding a steroid metabolizing enzyme, *DNA. Cell. Biol.*, **16**, 1143-1155.
- 2- **P.I. Mackenzie, I.S. Owens, B. Burchell et al.** (1997). The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence, *Pharmacogenetics*, **7**, 255-269.
- 3- **E. Beutler, T. Elbart et A. Demina** (1998). Racial variability in the UDP glucuronosyltransferase 1 promoter: A balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism. *Proc. Natl. Sci. USA.*, **95**, 8170-8174.
- 4- **R.H. Tukey and Ch. P. Strassburg** (2000). Human UDP glucuronosyltransferase: metabolism, expression and disease, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **40**, 581-616.
- 5- **S. Aono, Y. Adachi, Y. Uyama et al.** (1995). Analysis of genes of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in Gilbert's syndrome. *Lancet*, **345**, 958-959.
- 6- **P.J. Bosma, J.R. Chowdhury, C. Bakker, S. Gantla, A. De Boer, B.A. Oostra** (1995). The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N. Engl. J. Med.*, **333**, 1171-1175.
- 7- **K. Yamamoto, H. Sato, Y. Fujiyama, Y.U. Doida et T. Bamba** (1998). 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. *Biochem. Biophys. Acta.*, **1406**, 267-273.
- 8- **M. Black et B.H. Billing** (1969). Hepatic bilirubin UDP-glucuronyl transferase activity in liver disease and in Gilbert's syndrome. *N. Engl. J. Med.*, **280**, 1266-1271.
- 9- **J.K. Ritter, M.T. Yeatman, P. Ferreir et I.S. Owens** (1992). Identification of a genetic alteration in the code for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase in the UGT1 gene complex of a Crigler-Najjar type I patient. *J. Clin. Invest.*, **90**(1), 150-155.
- 10- **M. Sampietro et A. Iolascon** (1999). Molecular pathology of Crigler-Najjar type I and II and Gilbert's syndromes. *Haematologica*, **84**, 150-157.
- 11- **S. Kitsiou-Tzeli, E. Kanavakis, M. Tzetis, E. Kavazarakis, A. Galla et A. Tsezou** (2003). Gilbert's syndrome as a predisposing factor for idiopathic cholelithiasis in children. *Haematologica*, **88**(10), 1193-1194.
- 12- **A.Tsezou, M. Tzetis, E. Giannatou et al.** (2009). Gilbert Syndrome as a Predisposing Factor for Cholelithiasis Risk in the Greek Adult Population, *Genetic Testing and Molecular Biomarkers. Volume 13*, Number **1**, p. 143-146.
- 13- **M. Krawczyk, D.Q. Wang, P. Portincasa et F. Lammert** (2011). Dissecting the genetic heterogeneity of gallbladder stone formation. *Epub.*, May **31**(2), 157-172.
- 14- **B. Le Bihan-Levaufre, J. Francoual, J. Chalas, P. Trioche, L. Capel, A. Lindenbaum et P. Labrune** (2001). Prévalence génotypique de la maladie de Gilbert en France. *Gastroentérologie clinique et biologique*, **vol 25**, n°5 p.557.
- 15- **K. Sai, M. Saeki, Y. Saito et al** (2004). UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administrated Japanese patients with cancer. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **75**, 501-515.
- 16- **C.S. Huang, G.A. Luo, M.L. Huang, S.C. Yu et S.S. Yang** (2000). Variations of the bilirubin uridine-diphosphoglucuronosyltransferase 1A1 gene in healthy Taiwanese. *Journal of Food and Drug Analysis*, **10**, 539-544.
- 17- **O. Barbara, F. Danijela, M. Tina et L. B. Jana** (2007). UGT1A1 (TA)_n promoter polymorphism-A new case of a (TA)₈ allele in Caucasians. *Blood Cells, Molecules and Diseases*, **38**, 78-82.
- 18- **N. Kaniwa, K. Kurose, H. Jinno et al** (2004). Racial variability in haplotype frequencies of UGT1A1 and glucuronidation activity of a novel single nucleotide polymorphism 686C > T (P229L) found in African-American. *Drug Metabolism and Disposition*, **vol 33**, No.3.
- 19- **J. Sugatani, K. Yamakawa, K. Yoshinari et al** (2002). Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter and its association with hyperbilirubinemia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **292**, 492-497.
- 20- **C.S. Ki, K.A. Lee, S.Y. Lee et al** (2003). Haplotype structure of the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene and its relationship to serum total bilirubin concentration in a male Korean population. *Clin. Chem.*, **49**, 2078-2081.