

**Л.И. Мельникова¹, Л.Ю. Ильченко*^{1,2,3}, Е.А. Дунаева⁴,
Козицына М.В.⁴, О.П. Дрибноходова⁴, К.О. Миронов⁴**

¹— ФГБУЗ «Клиническая больница № 85» ФМБА России, Москва, Россия

²— ФГБНУ «Федеральный Научный центр исследования и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова» РАН, Москва, Россия

³— ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

⁴— ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

ВЫЯВЛЕНИЕ СИНДРОМА ЖИЛЬБЕРА МЕТОДОМ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ В РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

**L.I. Melnikova¹, L.Yu. Ilchenko*^{1,2,3}, E.A. Dunaeva⁴,
M.V. Kozitsyna⁴, O.P. Dribnokhodova⁴, K.O. Mironov⁴**

¹— Federal State Budgetary Healthcare Institution Clinical Hospital No. 85, FMBA of Russia, Moscow, Russia

²— Federal State Budgetary Scientific Institution Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and- Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³— Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Russian National Research Medical University named after N. I. Pirogov, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

⁴— Federal Budgetary Scientific Institution Central Research Institute of Epidemiology, Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

DIAGNOSIS OF GILBERT'S SYNDROME VIA PYROSEQUENCING IN CLINICAL PRACTICE

Резюме

Актуальность. Синдром Жильбера (СЖ) — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное либо нарушением уровня экспрессии гена *UGT1A1*, кодирующего изоформу фермента уридиндифосфатглюкуронилтрансферазы (УДФ-ГТА1), либо структурными модификациями УДФ-ГТА1. СЖ характеризуется неконъюгированной гипербилирубинемией; возможны нарушения метаболизма лекарств, развитие межлекарственных взаимодействий. Для диагностики СЖ с помощью молекулярно-биологических методов проводят определение однонуклеотидных полиморфизмов (ОП). Данные о распространенности ОП, касающиеся СЖ, в России малочисленны. **Цель исследования:** детекция генетического варианта (ТА)5/6/7/8 (rs8175347) в гене *UGT1A1* (синдром Жильбера) методом пиросеквенирования у пациентов в амбулаторной практике. **Материал и методы:** обследовано 200 пациентов амбулаторной практики. Из них: мужчин — 107 (53,5%), женщин — 93 (46,5%) в возрасте от 15 до 86 лет; преобладали пациенты от 30 лет и старше — 175 (87,5%). Детекция генетического варианта (ТА)5/6/7/8 (rs8175347) в гене *UGT1A1* (СЖ) осуществлялась методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа серии РугоMark «АмплиСенс® Пироскрин *UGT1A1*» (производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). В качестве сравнения использовали секвенирование по F. Sanger. **Результаты:** нормальный генотип (ТА)6/(ТА)6 установлен у 71 (35,5%) пациента, генотип (ТА)6/(ТА)7 — у 81 (40,5%) (гетерозиготное состояние) и (ТА)7/(ТА)7 — у 48 (24%) (гомозиготное состояние). Редкие генотипы (ТА)5/(ТА)6, (ТА)5/(ТА)7, (ТА)6/(ТА)8 и (ТА)7/(ТА)8 обнаружены не были. Результаты определения генотипов (ТА)6/(ТА)7 в гомо- и гетерозиготном состоянии методом пиросеквенирования и при секвенировании по Сэнгеру совпадали во всех случаях. У 30 из 48 пациентов СЖ был диагностирован впервые, в половине случаев это лица старшей возрастной группы. Ни у одного из них не наблюдалось повышения содержания билирубина. **Заключение:** частота выявления СЖ у амбулаторных пациентов составила 24%. Метод пиросеквенирования позволяет

*Контакты: Ильченко Людмила Юрьевна, e-mail: ilchenko-med@yandex.ru

*Contacts: Lyudmila Yu. Ilchenko, e-mail: ilchenko-med@yandex.ru

выявить различные варианты полиморфизма (ТА)5/6/7/8 в гомо- и гетерозиготном состоянии. Применение набора «АмплиСенс® Пироскрин UGT1A1» в клинической практике может быть использовано для диагностики СЖ и оценки побочных эффектов при назначении лекарств.

Ключевые слова: синдром Жильбера, гипербилирубинемия, уридиндифосфат-глюкурозилтрансфераза 1A1 (UGT1A1), пиросеквенирование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования

Статья получена 11.09.2019 г.

Принята к публикации 18.11.2019 г.

Для цитирования: Мельникова Л.И., Ильченко Л.Ю., Дунаева Е.А. и др. ВЫЯВЛЕНИЕ СИНДРОМА ЖИЛЬБЕРА МЕТОДОМ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ В РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ. Архивъ внутренней медицины. 2019; 9(6): 475-482. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-475-482

Abstract

Relevance. Gilbert's syndrome (GS) is a disease with an autosomal recessive type of inheritance caused by either impaired expression of the *UGT1A1* gene, which encodes the isoform of the uridine-5-diphosphate glucuronosyltransferase (UDP-GTA1), or structural modifications of UDP-GTA1. GS is characterized by unconjugated hyperbilirubinemia; drug metabolism disorders and the development of drug-drug interactions. For diagnosis of GS, molecular biological methods are used to determine single nucleotide polymorphisms (SNP). Data on the prevalence of SNP related to GS in Russia are scarce. **Study objective:** Detection of genetic variant (ТА)5/6/7/8 (rs8175347) in the *UGT1A1* gene (Gilbert's syndrome) by pyrosequencing in outpatient practice. **Material and methods:** 200 outpatients were examined. Of whom: men — 107 (53.5 %), women — 93 (46.5 %) aged 15 to 86 years; patients from 30 years and older formed the majority — 175 (87.5 %). Detection of the genetic variant (ТА)5/6/7/8 (rs8175347) in the *UGT1A1* gene (GS) was carried out by pyrosequencing using the PyroMark AmpliSens® Pyroscreen *UGT1A1* genetic analysis system (manufactured by the Federal Budgetary Scientific Institution Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Russia). For comparison, sequencing according to F. Sanger was used. **Results:** Normal (ТА)6/(ТА)6 genotype was found in 71 (35.5 %) patients, (ТА)6/(ТА)7 genotype was found in 81 (40.5 %) (heterozygous status) and (ТА)7/(ТА)7 genotype — in 48 (24 %) (homozygous status). Rare (ТА)5/(ТА)6, (ТА)5/(ТА)7, (ТА)6/(ТА)8 and (ТА)7/(ТА)8 genotypes were not found. The results of the determination of (ТА)6/(ТА)7 genotypes in the homo- and heterozygous status by pyrosequencing and Sanger sequencing were the same in all cases. In 30 out of 48 patients, GS was newly diagnosed, and in half of the cases these patients were persons of the older group. None of them showed an increase in bilirubin level. **Conclusion:** The incidence of GS in outpatients was 24 %. Pyrosequencing allows us to identify various variants of the (ТА)5/6/7/8 polymorphism in the homo- and heterozygous status. AmpliSens® Pyroscreen *UGT1A1* kit can be used in clinical practice to diagnose GS and to assess side effects of prescribed drugs.

Keywords: Gilbert's syndrome, hyperbilirubinemia, uridine-5-diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 (UDP-GTA1), pyrosequencing

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests

Sources of funding

The authors declare no funding for this study.

Article received on 11.09.2019

Accepted for publication on 18.11.2019

For citation: Melnikova L.I., Ilchenko L.Yu., Dunaeva E.A. et al. DIAGNOSIS OF GILBERT'S SYNDROME VIA PYROSEQUENCING IN CLINICAL PRACTICE. The Russian Archives of Internal Medicine. 2019; 9(6): 475-482. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-475-482

ВГН — верхняя граница нормы, НБ — неконъюгированный билирубин, ПЦР — полимеразная цепная реакция, СД 2 — сахарный диабет 2 типа, СЖ — синдром Жильбера, УДФ-ГТ — уридин-5-дифосфатглюкуронозилтрансфераза

Введение

Синдром Жильбера (СЖ) — нарушение обмена билирубина с аутосомно-рецессивным типом наследования, является наиболее часто встречающейся формой функциональных гипербилирубинемий, характеризуется повышенным содержанием неконъюгированного билирубина (НБ) в отсутствие хронического заболевания печени вирусной или другой этиологии, холестаза, резус-конфликта, гемолиза.

В 1901 г. французскими врачами А.Н. Gilbert и Р. Lereboullet впервые была описана умеренная персистирующая гипербилирубинемия; отмечен семейный характер этого заболевания [1].

Распространенность СЖ среди взрослого населения в мире вариабельна: от 2–5% [2, 3] до 40% [4] — в европейской популяции; до 36% — в африканской [5]. У детей частота СЖ достигает почти 14% [6]. В России эпидемиологические исследования по распространенности СЖ до настоящего времени не проводились.

СЖ значительно чаще встречается у мужчин [2]. Полагают, что преобладание лиц мужского пола связано с ингибирующим действием тестостерона на фермент уридин-5-дифосфатглюкуронозилтрансферазу (УДФ-ГТ), что может приводить к образованию большего количества билирубина [7, 8].

Основным физикальным признаком патологии, известной сегодня как СЖ, является желтушность

кожных покровов, склер и слизистых оболочек. Ведущие жалобы пациентов — астенические и диспепсические симптомы. СЖ проявляется, как правило, в результате эмоционального перенапряжения, физических нагрузок, инфекционных заболеваний, голодания / низкокалорийной диеты, приема некоторых лекарственных препаратов [2, 6, 9]. В среднем содержание НБ достигает 3-4 норм от верхней границы (ВГН).

В 2000-х годах был открыт ген *UGT*, локализующийся на хромосоме 2q37, и описан механизм его работы. Стал известен основной полиморфизм (вариант) гена *UGT1A1*, вызывающий снижение активности микросомального фермента УДФ-ГТ [10].

На сегодня установлена биохимическая и генетическая основа СЖ. Его развитие обусловлено нарушением уровня экспрессии гена *UGT1A1*, кодирующего изоформу УДФ-ГТА1. В этом случае обнаруживается изменение числа динуклеотидных повторов *TA* в промоторной области гена (**полиморфный маркер rs8175347**). У большинства людей промоторный регион включает шесть tandemных повторов, т.е. последовательность **A(TA)6TA(6)** — аллель «дикого типа» *1, для которой характерен, как правило, нормальный уровень НБ. При мутациях в промоторном регионе гена *UGT1A1* появляется инсерция (вставка) дополнительного динуклеотида в области *TA*-повторов *UGT1A1* и их число увеличивается до 7 повторов (аллель *28). В популяции среди аллелей с измененной экспрессией она является наиболее частой, ее наличие приводит к снижению активности УДФ-ГТА1. Кроме того описаны более редкие варианты полиморфизмов с 8 (аллель *37) и 5 (аллель *36) повторами, которые ассоциированы с пониженным и повышенным уровнем экспрессии фермента соответственно [11]. В настоящее время описано более 100 вариантов, различающихся как в кодирующей последовательности, так и в промоторе регионе [12].

Развитию СЖ способствуют также структурные модификации собственно УДФ-ГТА1. Его биохимическая активность направлена на превращение неконъюгированного билирубина в конъюгированный моно- и диглюкуронид, а также на конъюгацию небольших липофильных молекул (стероиды, гормоны, нейротрансмиттеры лекарственные вещества, канцерогены и др. ксенобиотики) в гидрофильные формы с целью их последующей экскреции [13]. Изоформы УДФ-ГТ 1A находят в различных отделах желудочно-кишечного тракта [14].

Аутосомно-рецессивный тип наследования при СЖ обеспечивает возможность «здоровому» гену компенсировать аномалии второго аллельного гена. Гетерозиготными носителями является меньшая часть населения, в обратном случае, при доминантном наследовании аномальный ген очень быстро распространился бы на всю популяцию. В то же время снижение активности УДФ-ГТА1 у лиц с наличием аллелей 7 и 8 (TA)-повторов может приводить к усилению проявлений СЖ, а также к развитию нежелательных

лекарственных реакций и межлекарственных взаимодействий в случаях применения препаратов, метаболизирующихся с участием этого фермента.

В настоящее время все большее значение приобретает необходимость молекулярно-биологических методов для подтверждения СЖ, что связано не только с проведением дифференциального диагноза, но и выбором медикаментозной стратегии. Для детекции однонуклеотидных полиморфизмов применяются методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР). До недавнего времени в лабораторной практике наиболее часто использовали метод секвенирования по F. Sanger [13], являющийся достаточно сложным и трудоемким. Сегодня значительно более удобным для детекции однонуклеотидных полиморфизмов представляется система генетического анализа PyroMark, основанная на методе пиросеквенирования [14] — детекции высвобождающегося при синтезе ДНК пирофосфата. При пиросеквенировании синтез достраивается комплементарная цепь ДНК и по наличию детектируемых сигналов на пирограмме определяется нуклеотидная последовательность исследуемого генетического локуса, в частности гена *UGT1A1* (рисунки 1, 2). Применение метода пиросеквенирования позволяет выявить не только частые полиморфизмы (TA)6/7 в гомо- и гетерозиготном состоянии, но и определить более редкие аллели (TA)5 и (TA)8 [15].

С учетом вышеизложенного **целью нашего исследования** явилась детекция генетического полиморфизма (TA)5/6/7/8 (rs8175347) в гене *UGT1A1* (синдром Жильбера) методом пиросеквенирования у пациентов в амбулаторной практике.

Данное исследование — один из этапов клинических испытаний медицинского изделия — Набор реагентов для детекции генетического полиморфизма (TA)5/6/7/8 (rs8175347) в гене *UGT1A1* методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа серии PyroMark (профиль генетического исследования «Синдром Жильбера») «АмплиСенс® Пироскрин UGT1A1-скрин» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (разрешение Росздравнадзора № 1251/2015 от 22 декабря 2015 г.).

Материал и методы

На базе поликлиники № 5 ФГБУЗ КБ № 85 ФМБА России в Центре диагностики и лечения хронических вирусных гепатитов проведено одноцентровое открытое одномоментное (поперечное) клиническое исследование.

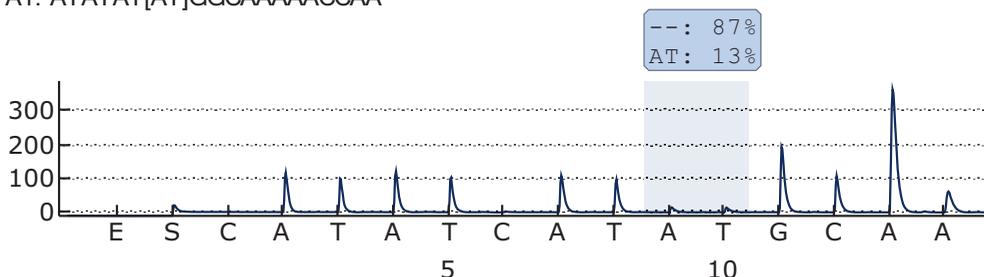
Группу обследованных составили 200 пациентов, обратившихся в феврале-марте 2016 г. в амбулаторную сеть по разным поводам (острые и хронические инфекции, соматическая патология, обследование, получение справок, стоматологическая помощь, консультация специалистов, вакцинопрофилактика и др.).

Из них: мужчин было 107 (53,5%), женщин — 93(46,5%). Возраст пациентов составил от 15 до 86 лет; преобладали пациенты от 30 лет и старше — 175(87,5%). Группа лиц в возрасте от 15 до 29 лет была малочисленной и включала всего 25(12,5%) человек. Все обследованные являлись сотрудниками подведомственных учреждений ФМБА России или их родственниками и наблюдались амбулаторно в медицинском учреждении свыше 3 лет. В 18 случаях диагноз СЖ был установлен ранее на основании выявления полиморфизма (ТА)₇ методом секвенирования по F. Sanger. Выборочная совокупность пациентов была сформирована случайным отбором.

Детекция генетического полиморфизма (ТА)_{5/6/7/8} (rs8175347) в гене *UGT1A1* (синдром Жильбера) осуществлялась методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа серии PyroMark «АмплиСенс Пироскрин *UGT1A1*-скрин» (производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; регистрационное удостоверение № РЗН 2016/4339).

Кроме того, с целью оценки клинической эффективности, безопасности и качества основанного на пиросеквенировании набора реагентов для детекции генетического полиморфизма (ТА)_{5/6/7/8} в качестве сравнения использовали другой молекулярно-

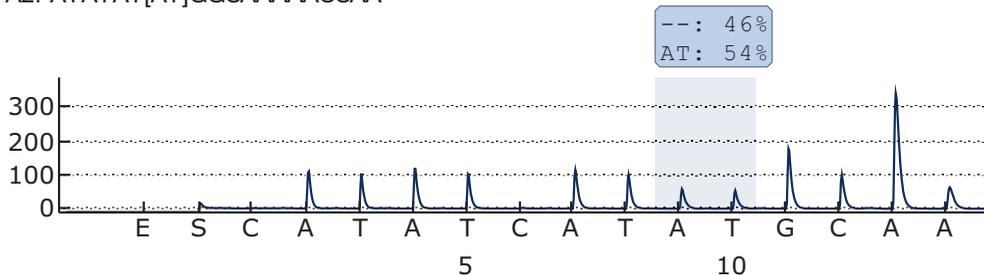
A1: ATATAT[AT]GGCAAAAACCAA



а) Образец без мутации, генотип 6/6

a) Sample without mutation, 6/6 genotype

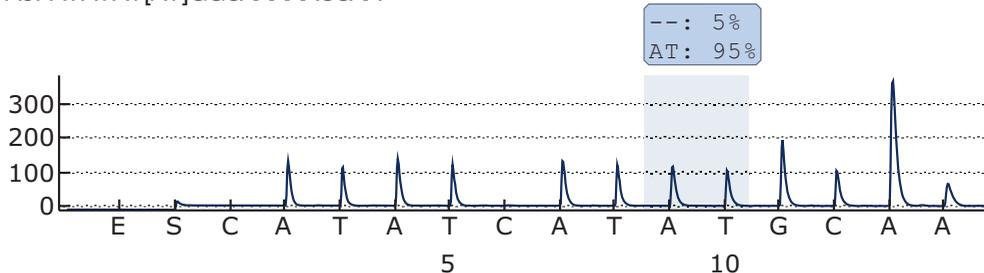
A2: ATATAT[AT]GGCAAAAACCAA



б) Образец с мутацией (гетерозигота), генотип 6/7

b) Sample with mutation (heterozygote), 6/7 genotype

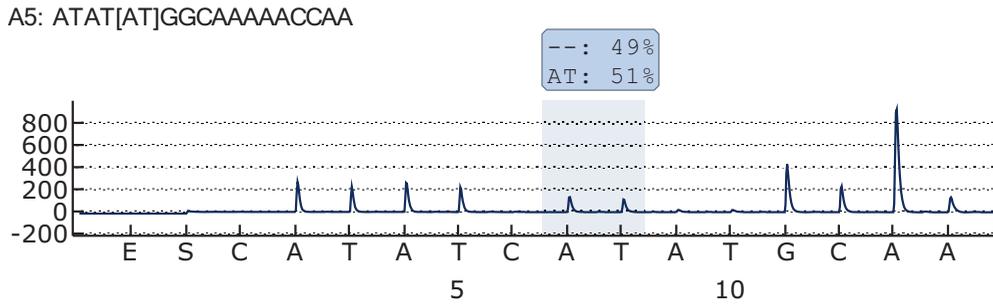
A3: ATATAT[AT]GGCAAAAACCAA



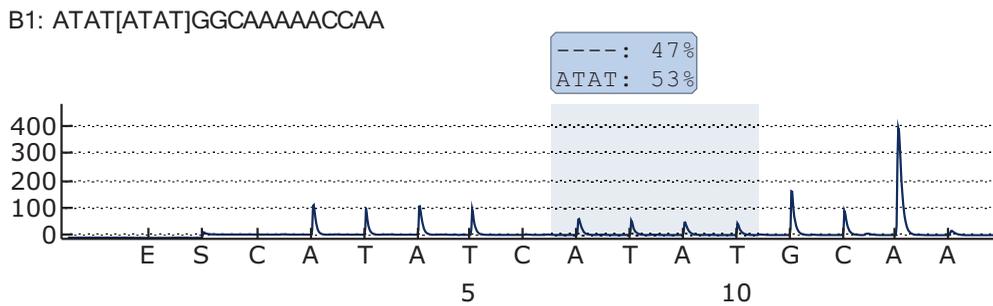
в) Образец с мутацией (гомозигота), генотип 7/7

c) Sample with mutation (homozygote), 7/7 genotype

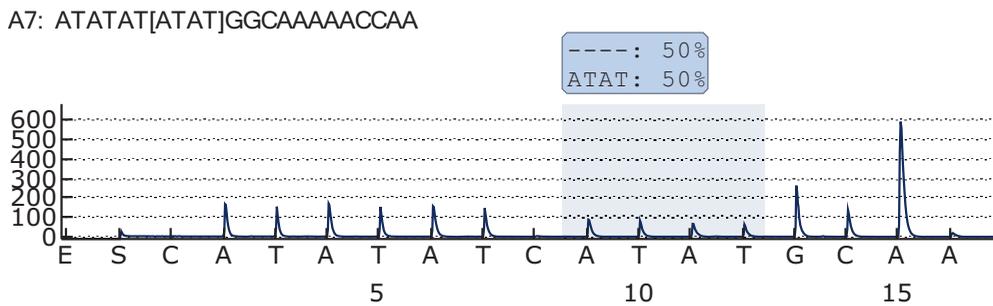
Рисунок 1. Пример пинограмм секвенирования гена *UGT1A1* с детекцией наиболее часто встречающихся генотипов
Figure 1. Example of patterns of the *UGT1A1* gene sequencing with detection of the most common genotypes



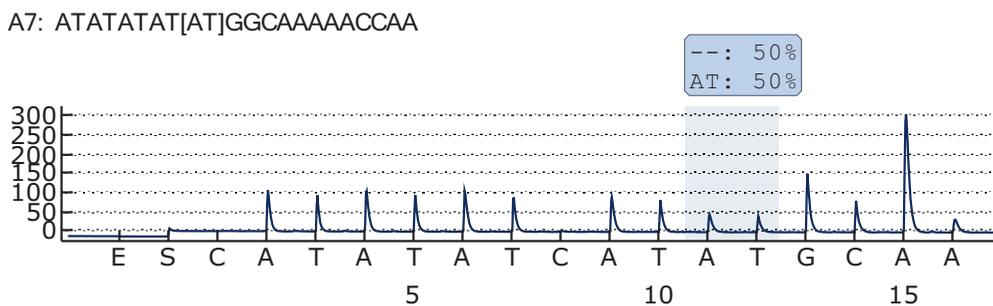
а) Образец с мутацией (гетерозигота), генотип 5/6
 а) Sample with mutation (heterozygote), 5/6 genotype



б) Образец с мутацией (гетерозигота), генотип 5/7
 б) Sample with mutation (heterozygote), 5/7 genotype



в) Образец с мутацией (гетерозигота), генотип 6/8.
 в) Sample with mutation (heterozygote), 6/8 genotype



г) Образец с мутацией (гетерозигота), генотип 7/8.
 г) Sample with mutation (heterozygote), 7/8 genotype.

Рисунок 2. Пример пинограмм секвенирования гена UGT1A1 с детекцией редко встречающихся генотипов
Figure 2. Example of patterns of the UGT1A1 gene sequencing with detection of rare genotypes

биологический метод секвенирования по F. Sanger, который применяется в диагностике СЖ в условиях современной лабораторной практики и является «золотым стандартом» определения генетических полиморфизмов.

Все лица, включенные в исследование, подписали информированное согласие на проведение генетического обследования и публикацию полученных результатов.

В ходе статистического анализа первичных данных для количественных переменных были рассчитаны основные выборочные показатели. Частоты аллелей и генотипов маркера *rs8175347* гена *UGT1A1* вычислялись как доли от их общего количества в выборке.

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование гена *UGT1A1*, выполненное методом пиросеквенирования, позволило выделить нормальный генотип (ТА)6/(ТА)6 у 71 (35,5%) пациента, а также полиморфизм (ТА)6/(ТА)7 — у 81 (40,5%) (гетерозиготное состояние) и (ТА)7/(ТА)7 — у 48 (24%) (гомозиготное состояние). Редкие генотипы (ТА)5/(ТА)6, (ТА)5/(ТА)7, (ТА)6/(ТА)8 и (ТА)7/(ТА)8 обнаружены не были. Следует подчеркнуть, что результаты по выявлению (ТА)6/(ТА)7 в гомо- и гетерозиготном состоянии, полученные при пиросеквенировании и секвенировании (по F. Sanger [13]), во всех исследуемых образцах были сопоставимы в 100% случаев.

При вставке в промоторном регионе дополнительного к нормальным шести ТА (тимин-аденин) повторов наблюдается снижение экспрессии гена и функциональной активности фермента УДФ-ГТА1, образуется полиморфизм А(ТА)7ТАА. Необходимо помнить, что значимыми для диагностики СЖ являются только гомозиготные формы при наличии семи и более ТА-повторов в обеих гомологичных хромосомах. А высокая частота (40,5%) обнаружения гетерозиготного состояния — (ТА)6/(ТА)7 в большей степени может иметь значение при рождении ребенка у гетерозиготной пары. Развитие СЖ может составлять в таких случаях 25%.

Выявленная нами частота (24%) аллеля (ТА)7 (таблица 1), подтверждающая наличие СЖ, оказалась существенно выше предполагаемой, что требует дальней-

шего накопления информации, а также проведения эпидемиологических исследований для оценки распространенности СЖ на территории России, поскольку данных о популяционно-генетических особенностях *UGT1A1* у жителей нашей страны крайне мало [2, 15-17].

У 18 из 48 пациентов диагноз СЖ был установлен ранее. При пиросеквенировании и секвенировании у них также был подтвержден генотип (ТА)7/(ТА)7. Это были 13 мужчин и 5 женщин, их возраст определялся в широком диапазоне — от 15 до 57 лет (из них 8 пациентов в возрасте до 25 лет).

Известно, что симптомы СЖ проявляются обычно в пубертатный период и весьма вариабельны, зависят от специфического воздействия внешних факторов (физических нагрузок, инсоляции, приема лекарственных препаратов и др.) [6]. Вместе с тем время первичного установления диагноза СЖ у этих пациентов существенно варьировало — от 3 лет до 54 лет. Особенностью клинической картины явилось отсутствие повышения НБ на момент проведения исследования у преобладающего большинства из этой группы. Лишь в 3 случаях отмечено увеличение содержания НБ (35 мкмоль/л, 60 мкмоль/л, 90 мкмоль/л соответственно).

Таким образом, применение молекулярно-биологических методов позволило у 30 из 200 обследованных пациентов впервые диагностировать генетическое заболевание (СЖ), в половине случаев преимущественно у лиц старшей возрастной группы. Ни у одного из них не наблюдалось повышения содержания НБ.

Возможно постоянное бессимптомное течение, в этих случаях СЖ может быть обнаружен при случайно выявленных отклонениях в биохимическом анализе крови. Своевременная диагностика синдрома Жильбера позволяет отличить его от других заболеваний печени и крови, вовремя ограничить прием препаратов, обладающих гепатотоксическим действием, осуществить профилактику печеночных кризов, скорректировать образ жизни пациента до полного исчезновения дискомфорта, вызываемого гипербилирубинемией.

На наш взгляд, является перспективной разработка алгоритма диагностики СЖ в латентный период, что позволит в последующем минимизировать влияние неблагоприятных факторов, избежать нежелательных лекарственных реакций, улучшить качество жизни.

Таблица 1. Распределение пациентов ($n=48$) с наличием (ТА)7/(ТА)7 (по полу и возрасту)

Table 1. Distribution of patients ($n = 48$) with the (ТА)7/(ТА)7 (genotype by sex and age)

Возраст, годы / количество пациентов/ Age, years / number of patients, n							
15-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80 и более/ 80 and older
6	6	7	7	7	11	3	1
Пол (м/ж)/ Sex (m/f)							
5/1	6/0	3/4	6/1	2/5	4/7	2/1	0/1

Таблица 2. Распределение пациентов (n=48) с наличием (ТА)7/(ТА)7**Table 2.** Distribution of patients (n = 48) with the (ТА)7/(ТА)7 genotype

Нозологическая форма/ Diagnosis	Количество пациентов/ Number of patients, n
Синдром Жильбера/ Gilbert's syndrome	18 (37,5%)
Хронический гепатит В/ Chronic hepatitis B	6 (12,5%)
Хронический гепатит С/ Chronic hepatitis C	5 (10,4%)
Хронический панкреатит/ Chronic pancreatitis	3 (6,25%)
Неалкогольная жировая болезнь печени/ Non-alcoholic fatty liver disease	2 (4,2%)
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь/ Gastroesophageal reflux disease	2 (4,2%)
Хронический холецистит/ Chronic cholecystitis	2 (4,2%)
Синдром раздраженной кишки/ Irritable bowel syndrome	1 (2,0%)
Гипертоническая болезнь/ Hypertension	3 (6,25%)
Ишемическая болезнь сердца/ Coronary artery disease	2 (4,2%)
Другое (острая герпетическая инфекция, ангина, острый бронхит, остеохондроз позвоночника)/ Other (acute herpes infection, tonsillitis, acute bronchitis, spinal osteochondrosis)	4 (8,3%)

В исследованиях последних лет было показано, что наиболее часто при СЖ выявляются заболевания печени, пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки и желчевыводящих путей [18]. По-видимому, это обусловлено эмбриогенетической общностью, функциональными взаимосвязями органов пищеварения, снижением детоксикационной способности печени, а также нарушением состава и реологических свойств желчи, что весьма характерно для СЖ [19].

Так, в нашем исследовании СЖ диагностирован у 19/48 (39,6%) обследованных с различными заболеваниями органов пищеварения, а в 11/19 случаях — с хроническими вирусными гепатитами В и С (таблица 2).

Пациенты с СЖ относятся к группе риска по развитию желчнокаменной болезни (ЖКБ) [20-22]. Недавно при молекулярно-генетическом исследовании было установлено, что 70% лиц с ЖКБ являются гомо- и гетерозиготами по СЖ. Кроме того, отмечено значительное увеличение частоты ЖКБ у мужчин с СЖ что ухудшает прогноз заболевания.

Напротив, получены данные о наличии антиоксидантных свойств НБ, что приводит к замедлению развития атеросклероза, микроангиопатий у лиц с СЖ, снижению числа сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета 2 типа (СД 2), а также

общей смертности [23]. Этот феномен, механизм которого не ясен, нашел отражение и в результатах нашей работы. Лишь 5 пациентов из 48 с установленным СЖ имели заболевания сердечно-сосудистой системы. Кроме того, в общей группе ни у одного человека с СД 2 не диагностирован полиморфизм (ТА)7 в гомозиготном состоянии.

Применение молекулярно-генетического анализа позволяет выстраивать стратегию диагностики, лечения и профилактики заболевания строго индивидуально [24]. В определенной степени это касается и пациентов с СЖ. Безусловно, контроль факторов риска, исключение неблагоприятных воздействий, провоцирующих развитие данного синдрома, будут способствовать сохранению хорошего уровня качества жизни.

Известно, что у пациентов с СЖ могут наблюдаться нежелательные эффекты при приеме ряда лекарственных препаратов вследствие нарушения синтеза ферментов, участвующих в их метаболизме. Существует целая группа лекарств, для выведения которых требуется глюкуронирование (в частности, салицилаты, кортикостероиды, сульфаниламиды и др.). Они составляют конкуренцию билирубин на фоне дефицита УДФ-ГТ, вызывают или усиливают желтуху. Появление желтухи при испытании нового лекарственного средства является «красным флагом», свидетельствующим о целесообразности генетического обследования пациента на СЖ, поскольку желтуха может быть обусловлена не гепатотоксичностью препарата, а проявлением СЖ [25, 26].

При регистрации повышенного уровня НБ в сыворотке крови в течение длительного периода в клинической практике следует использовать метод пироквенирования, который позволяет выявить различные варианты полиморфизма (ТА)5/6/7/8 (СЖ) в гомо- и гетерозиготном состоянии, а также оценить эффективность лекарственных средств и риски развития неблагоприятных реакций.

Вклад авторов

Мельникова Л.И. — разработка дизайна клинической части исследования, сбор материалов.

Ильченко Л.Ю. — анализ полученных данных, статистическая обработка данных, написание текста.

Дунаева Е.А. — выполнение пироквенирования и секвенирования в образцах крови пациентов, интерпретация результатов.

Козицына М.В. — разработка дизайна проекта

Дрибноходова О.П. — выполнение пироквенирования и секвенирования в образцах крови пациентов, интерпретация результатов.

Мионов К.О. — дизайн исследования, анализ результатов, редактирование текста.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Author Contribution

Melnikova L.I. — development of the design of the clinical part of the study, the collection of materials.

Ilchenko L.Yu. — analysis of the data obtained, statistical data processing, writing text.

Dunaeva E.A. — performing pyrosequencing and sequencing in patients' blood samples, interpretation of the results.

Kozitsyna M.V. — project design development

Dribnokhodova O.P. — performing pyrosequencing and sequencing in patients' blood samples, interpretation of the results.

Mironov K.O. — research design, analysis of results, text editing.

All the authors contributed significantly to the study and the article, read and approved the final version of the article before publication.

Литература / References

- Gilbert A.N., Lereboullet P. La cholemie simple familiale. *Semaine Medicale*. 1901; 21: 241-3.
- Ильченко Л.Ю., Дроздов В.Н., Шулятьев И.С. и др. Синдром Жильбера: клинико-генетическое исследование. *Тер. архив*. 2006; 2: 48-2.
- Ilchenko L.Yu., Drozdov V.N., Shulyat'ev I.S. et al. Gilbert's syndrome: clinical and genetic investigation. *Ter. arkh*. 2006; 2: 48-2. [In Russian].
- Wagner K.H., Shiels R.G., Llang C.A. et al. Diagnostic criteria and contributors to Gilbert's syndrome. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci*. 2018;55(2):129-39. doi: 10.1080/10408363.2018.1428526.
- Innocenti F., Ratain M.J. Irinotecan treatment in cancer patients with UGT1A1 polymorphisms. *Oncology (Williston Park, N.Y.)*. 2003; 17(5): 52-5.
- Farago B., Melegh B. Gilbert's syndrome. *Orv. Hetil*. 2008; 149(27): 1277-2. doi: 10.1556/ОН.2008.28381.
- Рейзис А.Р., Хохлова О.Н., Никитина Т.С. Синдром Жильбера: современные воззрения, исходы и терапия. *Доктор Ру*. 2012; 3(71): 42-5.
- Reyzis A.R., Khokhlova O.N., Nikitina T.S. Gilbert's Syndrome: Current Insights, Outcomes and Therapies. *Doctor Ru*. 2012; 3(71): 42-5. [In Russian].
- Johnson A.D., Kavousi M., Smith A.V. et al. Genome-wide association meta-analysis for total serum bilirubin levels. *Human Molecular Genetics*. 2009; 18(14): 2700-10. doi: 10.1093/hmg/ddp202.
- Muraca M., Fevery J. Influence of sex and sex steroids on bilirubin-uridinediphosphateglucuronosyltransferase activity of rat liver. *Gastroenterology*. 1984; 87: 308-3.
- Lee J.S., Wang J., Martin M. et al. Genetic variation in UGT1A1 typical of Gilbert syndrome is associated with unconjugated hyperbilirubinemia in patients receiving tocilizumab. *Pharmacogenet. Genomics*. 2011; 21(7): 365-4. doi: 10.1097/FPC.0b013e32834592fe.
- Mackenzie P.I., Owens I.S., Burchell B. et al. The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence. *Pharmacogenetics*. 1997; 7(4): 255-69. doi:10.1097/00008571-199708000-00001.
- Matsui K., Maruo Y., Sato H. et al. Combined effect of regulatory polymorphisms on transcription of UGT1A1 as a cause of Gilbert syndrome. *BMC Gastroenterology*. 2010; 10: 57. doi: 10.1186/1471-230X-10-57.
- Sugatani J. Function, genetic polymorphism, and transcriptional regulation of human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1. *Drug Metab. Pharmacokinet*. 2013; 28(2): 83-2.
- Герок В., Блюм Х.Е. Заболевания печени и желчевыведительной системы. М.: «МЕДпресс-информ». 2009; 199 с.
- Gerok V., Blum H.E. Diseases of the liver and bile excretory system. German transl. М.: Medpress-inform. 2009; 199 p. [In Russian].
- Bock K.W., Gschaidmeier H., Heel H. et al. Functions and transcriptional regulation of PAH-inducible human UDP-glucuronosyltransferases. *Drug Metab. Rev*. 1999; 31(2): 411-22. doi: 10.1081/DMR-100101927.
- Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating ingibtors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1977; 74(12): 5463-7. DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463.
- Nyrén P. The History of Pyrosequencing. *Methods Mol. Biol*. 2015; 1315: 3-15. doi: 10.1007/978-1-4939-2715-9_1.
- Дрибнохотова О.П., Миронов К.О., Дунаева Е.А. и др. Определение полиморфизма (ТА)6(ТА)7 в гене *UGT1A1* методом пиросеквенирования. *Молекулярная медицина*. 2014; 2: 38-40.
- Dribnokhodova O.P., Mironov K.O., Dunaeva E.A. et al. A pyrosequencing-based for the detexction of UGT1A1 (ТА)6(ТА)7 polymorphism. *Molecular medicine*. 2014; 2: 38-40. [In Russian].
- Волков А.Н., Цуркан Е.В. Мутация гена *UGT1A1* как маркер высокого риска возникновения синдрома Жильбера: научно-прикладные аспекты. *Анализ риска здоровью*. 2019; 2: 123-9. doi: 10.21668/health.risk/2019.2.14.
- Volkov A.N., Tsurkan E.V. *UGT1A1* gene mutation as a marker indicating there is a high risk of Gilbert's syndrome: theoretical and applied aspects. *Health risk analysis*. 2019; 2: 123-9. [In Russian]. doi: 10.21668/health.risk/2019.2.14.
- Колюбаева С.Н., Кулагина К.О., Петрова И.С., Криворучко А.Б., Иванов А.М. Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Жильбера методом пиросеквенирования. *Поликлиника*. 2016; 1(3): 4-6.
- Kolubaeva S.N., Kulagina K.O., Petrova I.S., Krivoruchko A.B., Ivanov A.M. Diagnostics of Gilbert's syndrome by pyrosequencing. *Polyclinic*. 2016; 1(3): 4-6. [In Russian].
- Дубровина Г.М., Ботвиньев О.К., Колотилина А.И. Сочетание синдрома Жильбера с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2014; 3: 13-1.
- Dubrovina G.M., Botvin'yev O.K., Kolotilina A.I. Combination of Gilbert's syndrome and gastrointestinal diseases. *Russian J. Gastroenterol., Hepatol., Coloproctol*. 2014; 3: 13-1. [In Russian].
- Dutt M.K., Murphy G.M., Thompson R.P. Unconjugated bilirubin in human bile: the nucleating factor in cholesterol cholelithiasis? *J. Clin. Pathol*. 2003; 56: 596-8. doi: 10.1136/jcp.56.8.596.
- Tsezou A., Tzetzis M., Giannatou E. et al. Gilbert syndrome as a predisposing factor for cholelithiasis risk in the Greek adult population. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. 2009; 13(1): 143-6. doi: 10.1089/gtmb.2008.0095.
- Buch S., Schafmayer C., Völzke H. et al. Loci from a genome-wide analyses of bilirubin levels are associated with gallstone risk and composition. *Gastroenterology*. 2010; 139(6): 1942-1. doi: 10.1053/j.gastro.2010.09.003.
- Radlović N., Ristić D., Brdar R. Association of hereditary elliptocytosis and Gilbert's syndrome as the cause of biliary calculosis: case report. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*. 2011; 139(5-6): 386-9.
- Horsfall L.J., Nazareth I., Pereira S.P. et al. Gilbert's syndrome and the risk of death: a population-based cohort study. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2013; 28(10): 1643-7. doi: 10.1111/jgh.12279.
- Ginsburg G.S., McCarthy J.J. Personalized medicine: Revolutionizing drug discovery and patient care. *Trends Biotechnol*. 2001; 19: 491-6.
- Deterding K., Grüngreiff K., Lankisch T.O. et al. Gilbert's syndrome and antiviral therapy of hepatitis C. *Ann. Hepatol*. 2009; 8(3): 246-50.
- McDonald G.B., Evans A.T., McCune J.S. et al. Mortality outcomes after busulfan-containing conditioning treatment and haemopoietic cell transplantation in patients with Gilbert's syndrome: a retrospective cohort study. *Lancet Haematol*. 2016; 3(11): e516-e525. doi: 10.1016/S2352-3026(16)30149-1.