

И.Н. Захарова¹, М.И. Пыков¹, З.В. Калоева¹, Л.А. Катаева², С.В. Шишкина², И.В. Бережная²,
Е.В. Резниченко³, Н.В. Молоткова³

¹ Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава, Москва

² Тушинская детская городская больница, Москва

³ Пансион воспитанниц Министерства обороны Российской Федерации, Москва

Апостериорная ценность клинических и лабораторных проявлений синдрома Жильбера у детей

Контактная информация:

Захарова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач России, заведующая кафедрой педиатрии ГОУ ДПО РМАПО Росздрава

Адрес: 125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 28, тел.: (495) 496-52-38, e-mail: zakharova-rmapo@yandex.ru

Статья поступила: 24.04.2011 г., принята к печати: 11.07.2011 г.

Синдром Жильбера — доброкачественная непрямая гипербилирубинемия наследственного характера, обусловленная недостаточностью фермента уридиндифосфатглюкуронилтрансферазы. Ген UGT1A1 локализован на 2q37 хромосоме. Наиболее распространенным является дефект на промоторном участке гена в области пары тимин-аденин. Обследовано 200 детей в возрасте от 8 до 16 лет, имеющих клинико-лабораторные проявления синдрома Жильбера. Всем детям проведено генетическое исследование. Вычислено, что внешние признаки, предъявляемые жалобы и лабораторные проявления имеют недостаточную чувствительность и специфичность. Это говорит о том, что данные признаки не могут быть использованы как критерии диагностики синдрома Жильбера. Полученные результаты позволяют рекомендовать всем детям с гипербилирубинемией и подозрением на синдром Жильбера проводить генетическое исследование как приоритетное.

Ключевые слова: печень, гипербилирубинемия, синдром Жильбера, ген UGT1A1, диагностика, дети.

В последнее время среди детского населения отмечается тенденция к росту патологии печени [1]. Гепатомегалия зачастую является первым симптомом, с которым на практике сталкивается педиатр. На первом этапе, как правило, необходимо проведение лабораторных исследований, включающих определение ферментов печени, маркеров холестаза, а также тестов, позволяющих исключить заболевания печени вирусной природы. Известно, что метод иммуноферментного анализа для диагностики вирусного гепатита обладает 100% чувствительностью и специфичностью [2]. Гораздо сложнее проведение дифференциальной диагностики заболеваний печени при интерпретации биохимического анализа крови, обладающего хорошей чувствительностью,

но недостаточной специфичностью для различной патологии печени. Нередко не обнаружив данных, подтверждающих вирусную природу поражения печени, при наличии гепатомегалии, желтухи и гипербилирубинемии одновременно или одного из этих признаков, диагностируется синдром Жильбера, и диагностический поиск в дальнейшем прекращается.

В 2010–2011 гг. исполняется 110 лет с момента публикации Августином Николасом Жильбером (1858–1927) печатных работ, посвященных симптомокомплексу, который носит его имя. Синдром Жильбера — наследственная болезнь, проявляющаяся эпизодами желтухи и развивающаяся вследствие повышения уровня неконъюгированного билирубина в сыворотке крови

101

I.N. Zakharova¹, M.I. Pykov¹, Z.V. Kaloyeva¹, L.A. Kataeva², S.V. Shishkina², I.V. Berejnaya², E.V. Reznichenko³,
N.V. Molotkova³

¹ GOU DPO Russian Medical Academy of Postgraduate Education Medical University, Moscow

² Tushino City Children's Hospital, Moscow

³ Hostel pupils of the Defence Ministry of the Russian Federation, Moscow

Gilbert's syndrome in children: contemporary diagnostic potentialities

Gilbert's syndrome is a benign indirect hyperbilirubinemia of the hereditary nature, caused by deficiency of the enzyme uridindiphosphatglucuronitransferase. UGT1A1 gene is localized on chromosome 2q37. The most common is a defect in the promoter region of the gene pairs in the thymine-adenin. 200 children aged 8 to 16 years with clinical and laboratory manifestations of Gilbert syndrome have been examined. All children undergone to a genetic study. It was calculated that the external signs, the shown complaints and laboratory manifestations are not enough sensitive and specific. This suggests that these symptoms can not be used as criteria for diagnosis of the Gilbert syndrome. The obtained results allow to recommend that all children with hyperbilirubinemia and Gilbert's syndrome suspected should undergo to a genetic research as a priority.

Key words: liver, hyperbilirubinemia, Gilbert syndrome, gene UGT1A1, diagnosis, children.

на 30–40% от нормы. В основе синдрома Жильбера лежит снижение активности фермента печени — уридиндифосфатглюкуроилтрансферазы (УДФГТ).

Как известно, разработка метода секвенирования биополимеров (белков и нуклеиновых кислот — ДНК и РНК), заключающегося в определении их первичной аминокислотной или нуклеотидной последовательности (англ. Sequence — последовательность), положила начало новому этапу развития молекулярной биологии [3, 4].

Обычно до начала секвенирования производят амплификацию участка ДНК, последовательность которого требуется определить при помощи ПЦР. При секвенировании происходит гибридизация синтетического олигонуклеотида длиной 17–20 звеньев со специфическим участком одной из цепей секвенируемого участка. Данный олигонуклеотид является праймером, поставляющим 3'-гидроксильную группу для инициации синтеза цепи комплементарной матрицы. Раствор с праймером распределяют по четырем пробиркам, в каждой из которых находятся четыре дезоксинуклеотида: dATP, dCTP, dGTP и dTTP. В более современном варианте дезоксинуклеотиды метят четырьмя разными флуоресцентными красителями и проводят ПЦР в одной пробирке. Затем во время электрофореза в полиакриламидном геле луч лазера в определенном месте геля возбуждает флуоресценцию красителей, и детектор определяет, какой нуклеотид в настоящий момент мигрирует через гель. Благодаря знанию генетического кода появилась возможность определять участки нуклеотидных последовательностей, кодирующих потенциальные белки. Этот источник и сегодня дает нам основную информацию о функциональном строении нуклеотидной последовательности [5].

С открытием и расшифровкой генома человека появились сведения о гене *UGT1A1*, мутация которого способствует снижению функциональной активности фермента УДФГТ печени, отвечающего за конъюгацию билирубина. Ген *UGT1A1* локализован на 2q37 хромосоме. Наиболее распространенным генетическим дефектом является изменение на промоторном участке гена в области тимин-аденина (ТА) [6]. Наличие хотя бы одного аллеля с инсерцией (7ТА) приводит к уменьшению экспрессии гена до 20% нормального уровня, что способствует снижению функциональной активности фермента на 30% и нарушению конъюгации билирубина в гепатоцитах на 80% по отношению к норме. Таким образом формируются условия для развития синдрома Жильбера.

В основе гипербилирубинемии при синдроме Жильбера лежат два главных механизма: нарушение захвата свободного билирубина из плазмы гепатоцитом и дефект конъюгации билирубина с глюкуроновой кислотой в печеночной клетке. При выраженной недостаточности фермента УДФГТ характер наследования патологического процесса — аутосомно-рецессивный, при менее выраженной — аутосомно-доминантный [7].

Приведем два клинических примера, наглядно демонстрирующих необходимость проведения генетического исследования у детей с гипербилирубинемией и подозрением на синдром Жильбера.

Клинический пример 1. Мальчик-подросток 15 лет, поступил в стационар на обследование с направляющим диагнозом «Хронический гастродуоденит в стадии обострения, синдром Жильбера».

При поступлении: жалобы на боли в эпигастрии, купирующиеся после приема пищи, тошноту (периодически). Кожные покровы бледные, легкая иктеричность склер. Физическое развитие: без отклонений от нормы.

Клинические анализы крови и мочи нормальные.

Биохимическое исследование крови: общий билирубин — 59 мкмоль/л (норма — до 21 мкмоль/л), прямой билирубин — 6 мкмоль/л (норма — до 5 мкмоль/л), остальные показатели в норме.

Серологические исследования крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) и исследование крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволили исключить гепатиты В и С.

Копрология — в норме.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости и почек патологии не выявлено.

При эзофагогастродуоденоскопии выявлены признаки гастродуоденита в фазе обострения. Тест на хеликобактер — положительный.

ЭКГ: число сердечных сокращений — 75–80 в мин, ритм — синусовый.

Молекулярно-генетическое исследование: при исследовании ДНК, выделенной из крови пациента методом аллель-специфичной ПЦР, в промоторной области гена *UGT1A1* установлен гомозиготный генотип: А(ТА)6ТА/АА(ТА)6АА. Полученные молекулярно-генетические данные не являются основанием для диагностики синдрома Жильбера.

Клинический диагноз: Хронический гастродуоденит в фазе обострения, ассоциированный с хеликобактерной инфекцией.

Требуется углубленное исследование пациента в условиях специализированного гепатологического отделения.

Данный пример наглядно показывает, что стандартные клиничко-лабораторные методы не обладают специфичностью для определения синдрома Жильбера. Проведенное молекулярно-генетическое исследование у данного пациента является подтверждением.

Клинический пример 2. Мальчик-подросток 12 лет. При поступлении в стационар жалуется на боли в животе в области пупка, склонность к запорам (один раз в два-три дня) в течение года.

При осмотре: кожные покровы бледные, субиктеричность склер. Язык обложен белым налетом. Живот мягкий, доступен глубокой пальпации, болезненный в параумбиликальной области. Печень пальпируется (+2 см из-под края реберной дуги). Физическое развитие соответствует возрасту.

Клинические анализы крови и мочи без патологии. В биохимическом анализе крови: общий билирубин — 26 мкмоль/л (норма — до 21 мкмоль/л), прямой — 4 мкмоль/л (норма — до 5 мкмоль/л), остальные показатели в норме.

Серологические исследования методом ИФА и исследование крови методом ПЦР позволили исключить гепатиты В и С.

Копрология — в норме.

Эзофагогастродуоденоскопия: патологии не выявлено.

УЗИ органов брюшной полости и почек: печень — умеренно увеличена, структура однородна, эхогенность повышена. Желчный пузырь: стенка тонкая, просвет эхонегативный. Со стороны других органов брюшной полости патологии не выявлено. Заключение: Диффузные изменения печени. Умеренная гепатомегалия.

Ирригография: признаки гипомоторной дискинезии кишечника.

Ректороманоскопия: патологии не выявлено.

ЭКГ: норма.

Молекулярно-генетическое исследование: при исследовании ДНК, выделенной из крови пациента методом ПЦР, электрофорезной детекции в промоторной обла-

сти гена *UGT1A1*, установлен гомозиготный генотип: *A(TA)7TA/AA(TA)7AA*. Полученные молекулярно-генетические данные являются основанием для диагностики синдрома Жильбера.

Клинический диагноз: Функциональные нарушения толстой кишки. Хронический запор. Синдром Жильбера. Гепатомегалия.

Этот клинический пример служит доказательством того, что даже при незначительном увеличении содержания непрямого билирубина в сыворотке крови требуется генетическое исследование для исключения синдрома Жильбера.

В связи с этим целью нашего исследования стала оптимизация диагностики синдрома Жильбера и уточнение его структуры на основании генетического исследования.

Для выполнения намеченной цели было обследовано 200 детей в возрасте от 8 до 16 лет (144 девочки и 56 мальчиков, средний возраст детей — 12,5 лет), имеющих клинко-лабораторные проявления синдрома Жильбера.

Всем детям с подозрением на синдром Жильбера проводилась генетическая ДНК-диагностика, включающая секвенирование промоторной области гена *UGT1A1*. Нами проводилось исследование частоты встречаемости динуклеотидной инсерции в промоторной области гена *UGT1A1*. Исследование проводилось лабораторией «ПИННИ» (Постгеномные и нанотехнологические инновации РYNNY), созданной на базе Инновационного центра медицинских нанобиотехнологий ГУ НИИ физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства (академик РАН В. И. Сергиенко).

По данным обследования, жалобы гастроэнтерологического характера отмечались при поступлении в стационар у половины (50%) пациентов; остальные дети (50%) стали объектом внимания в связи с обнаружением гипербилирубинемии в процессе проводимой нами диспансеризации девочек-подростков в Пансионе воспитанниц Министерства обороны Российской Федерации.

Жалобы гастроэнтерологического характера у детей были разной степени выраженности, наиболее частые из них: тошнота, изжога, боли в животе, нарушения аппетита, чувство тяжести после еды, склонность к запорам. Повышенную утомляемость, лабильность настроения, головные боли напряжения, потливость отмечали у себя все исследуемые дети ($p < 0,01$), а также внешние проявления, такие как субиктеричность склер, слизистых оболочек и кожи. Степень выраженности данных клинических проявлений варьировала от легких до ярко выраженных ($p < 0,01$).

По результатам проведенного молекулярно-генетического исследования, обследованные дети имели различ-

ные генотипы. Все полученные данные представлены в табл. 1.

В результате проведенного генетического исследования установлено, что 38% обследованных нами детей оказались гетерозиготны по *6TA/7TA* и 37% детей — гомозиготны по *7TA/7TA*. Остальные дети (по 0,5% обследуемых) оказались носителями следующих генотипов: *5TA/6TA*, *6TA/8TA* и *7TA/8TA*. При этом 23,5% детей были гомозиготны по *6TA/6TA*, что не является основанием для постановки диагноза синдром Жильбера. Полученные нами данные подтверждают, что у 25% детей под «маской» синдрома Жильбера скрываются другие причины неконъюгированных гипербилирубинемий, требующих верификации диагноза.

В соответствии с полученными молекулярно-генетическими данными исследуемые дети были разделены на 2 группы. Первую группу составили гомо- и гетерозиготы по *7TA*, во вторую (группу сравнения) вошли пациенты с остальными вариантами генотипа *UGT1A1*. В табл. 2 представлены жалобы детей с рассчитанной для них чувствительностью и специфичностью.

Как видно из таблицы, чувствительность некоторых жалоб оказалась высокой, но их специфичность была настолько низкой, что данные признаки не могут быть использованы в качестве критерия диагностики синдрома Жильбера. Большинство представленных жалоб свойственны больным с различной патологией ЖКТ, и они не являются патогномичными для какого-то определенного заболевания.

При осмотре детей отмечены внешние клинические проявления: желтушное прокрашивание кожных покровов, иктеричность склер и слизистой оболочки мягкого неба (табл. 3).

Анализируя данные таблицы, можно подчеркнуть, что желтушные изменения кожных покровов и слизистых оболочек являются высокочувствительным, но малоспецифичным признаком для синдрома Жильбера.

При исследовании функциональных печеночных проб нами изучались такие показатели, как общий белок, общий билирубин, его фракции, щелочная фосфатаза, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, холестерин, триглицериды, лактатдегидрогеназа и γ -глутамилтрансфераза. В ходе анализа биохимических показателей у обследуемых детей обнаружено повышение уровней аспартатаминотрансферазы — у 6 (3%), лактатдегидрогеназы — у 3 (1,5%), аланинаминотрансферазы — у 4 (2%), щелочной фосфатазы — у 17 (8,5%) ($p > 0,05$). Остальные показатели оставались в пределах возрастной нормы. Данные изменения расценивались нами как отражение сопутствующей патологии ввиду низкой достоверности ($p > 0,05$). Наблюдаемое повышение содержания общего билирубина за счет непрямой

Таблица 1. Полиморфизм гена *UGT1A1* у обследованных детей

<i>UGT1A1</i> генотип	Число детей (n)	%
5TA/6TA	1	0,5
6TA/6TA	47	23,5
6TA/7TA	76	38
7TA/7TA	74	37
6TA/8TA	1	0,5
7TA/8TA	1	0,5
Итого	200	100

Таблица 2. Чувствительность и специфичность жалоб обследованных детей

Признак (жалоба)	UGT1A1 генотип	
	6TA/7TA; 7TA/7TA	
	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
Тошнота	82,5	25
Изжога	55,2	27,8
Боли в животе	75,6	54,9
Нарушения аппетита	64,9	19,5
Тяжесть в животе после еды	77	42
Хронический запор	60,2	14,5
Повышенная утомляемость	68,3	58,8
Лабильность настроения	79,8	39,6
Головные боли напряжения	37,8	44,9
Потливость	74	35,4

Таблица 3. Чувствительность и специфичность изменений кожных покровов и слизистых оболочек

Признак	UGT1A1 генотип	
	6TA/7TA; 7TA/7TA	
	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
Желтушность кожных покровов	98	35,7
Иктеричность склер	87,6	55
Иктеричность слизистой оболочки мягкого неба	92	38,4

фракции имело 100% чувствительность и низкую (67%) специфичность для синдрома Жильбера. При проведении ультразвукового исследования органов брюшной полости нами выявлено увеличение линейных размеров печени у 50% наблюдаемых детей ($p < 0,05$). Чувствительность данного метода исследования составила 93%, а специфичность — только 70%. Деформация желчного пузыря наблюдалась в 28,5% случаях ($p < 0,05$). Данный признак для синдрома Жильбера имел низкую (50%) чувствительность и специфичность (63%). При ультразвуковом исследовании селезенки изменений со стороны паренхимы органа, ее линейных размеров и других ультразвуковых показателей не выявлено. При изучении гемодинамических показателей печени нами исследовались воротная, верхнебрыжеечная, селезеночная, печеночные вены и общая печеночная артерия. В этих сосудах оценивались такие показатели, как диаметр сосуда, скорость и индекс резистентности для

артерии. По результатам проведенной доплерографии сосудов печени у детей с синдромом Жильбера не обнаружено достоверных отклонений в показателях гемодинамики ($p > 0,05$). Таким образом, диагностическая ценность стандартных клинических и лабораторных данных, используемых для диагностики синдрома Жильбера, оказалась недостаточно специфичной. «Золотым стандартом» диагностики синдрома Жильбера является генетическое исследование, позволяющее с высокой точностью поставить диагноз. Это особенно важно в свете имеющихся представлений о том, что больных с синдромом Жильбера не следует лечить, если нет сопутствующей патологии, и что продолжительность из жизни не отличается от таковой у больных без данного синдрома. Однако выявленная гипербилирубинемия у 25% обследованных больных, у которых не подтвержден диагноз синдрома Жильбера, требует дальнейшего обследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Таточенко В.К. Побочное действие лекарств в детской практике // Детский доктор. — 2000; 4: 37–41.

2. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. — М.: Медицина, 2006. — 544 с.

3. Lee C.R., Goldstein J.A., Pieper J.A. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data // Review. Pharmacogenetics. — 2002; 12 (3): 251–263.

4. Tsujita Y., Baba S., Yamauchi R. et al. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: the Suita study // J. Hypertens. — 2001; 19: 1941–1948.

5. Lin Y.-C., Chang P.-F., Hu F.-C. et al. Variants in the UGT1A1 Gene and the Risk of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease // Pediatrics. — 2009; 124: 1221–1227.

6. Esteban A., Perez-Mateo M. Heterogeneity of paracetamol metabolism in Gilbert's syndrome // Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinetic. — 1999; 24: 9–13.

7. Муравлянская Л.Н. Болезнь Жильбера: особенности диагностики / Материалы Научно-практической конференции врачей и научных работников, посвященной 80-летию Омской областной клинической больницы, 2000. — С. 151–152.