

Метод пиросеквенирования в диагностике синдрома Жильбера

Мельникова Л.И.¹, Ильченко Л.Ю.^{1,2}, Дунаева Е.А.³, Козицына М.В.³,
Дрибноходова О.П.³, Миронов К.О.³, Ижевский П.В.⁴, Никишин В.В.¹

- 1 — ФГБУЗ КБ № 85 ФМБА России
115409, г. Москва, ул. Москворечье, 16
- 2 — ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1
- 3 — ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
11123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а
- 4 — ГНЦ РФ–ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России
123098, г. Москва, ул. Живописная, 46

Метод пиросеквенирования позволяет выявить различные варианты полиморфизма (ТА)5/6/7/8 в гомо- и гетерозиготном состоянии. Частота выявления синдрома Жильбера у амбулаторных пациентов составила 24%. Применение набора «АмплиСенс®Пироскрин UGT1A1» в клинической практике может быть использовано для диагностики синдрома Жильбера и оценки побочных эффектов при назначении лекарств.

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

Для цитирования: Мельникова Л.И., Ильченко Л.Ю., Дунаева Е.А., Козицына М.В., Дрибноходова О.П., Миронов К.О., Ижевский П.В., Никишин В.В. Метод пиросеквенирования в диагностике синдрома Жильбера. *Медицинская генетика* 2020; 19(7): 99-100.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.99-100

Автор для корреспонденции: Мельникова Любовь Ивановна; **e-mail:** mel165@mail.ru

Финансирование. Госзаказ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Pyrosequencing method in the diagnosis of Gilbert syndrome

Melnikova L.I.¹, Ilchenko L.Yu.^{1,2}, Dunaeva E.A.³, Kozitsyna M.V.³, Dribnokhodova O.P.³, Mironov K.O.³, Izhevskiy P.V.⁴, Nikishin V.V.¹

- 1 — Clinical Hospital № 85 FMBA of Russia
Mosvorchie st., 16, Moscow, 115230, Russian Federation
- 2 — Pirogov Russian National Research Medical University
Ostrovityanova st. 1, Moscow, 117997, Russian Federation
- 3 — Central Research Institute of Epidemiology
Novogireevskaya st. 3A, Moscow, 111123, Russian Federation
- 4 — State Research Center of Russian Federation – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency
Zhivopisnaya st., 46, Moscow, 123098 Russian Federation

The pyrosequencing is a reliable and robust technique for different variants of polymorphism (TA)5/6/7/8 verification in homo- and heterozygous state. The frequency of GS in outpatient patients was 24%. The application of «AmpliSens® Pyroscreen UGT1A1» kit in clinical practice.

Keywords: Gilbert's syndrome, hyperbilirubinemia, uridine-diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1), pyrosequencing

For citation: Melnikova L.I., Ilchenko L.Yu., Dunaeva E.A., Kozitsyna M.V., Dribnokhodova O.P., Mironov K.O., Izhevskiy P.V., Nikishin V.V. Pyrosequencing method in the diagnosis of Gilbert syndrome. *Medical genetics*. 2020; 19(7): 99-100 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.99-100

Corresponding author: Melnikova Lyubov Ivanovna; **e-mail:** mel165@mail.ru

Funding. State assignment.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

В 2000-е годы установлена биохимическая и генетическая основа синдрома Жильбера (СЖ). Его развитие обусловлено нарушением уров-

ня экспрессии гена *UGT1A1*, кодирующего изоформу УДФ-ГТ (уридин-5-дифосфатглюкуронозилтрансферазы) [1,2]. В Российской Федерации практически от-

существуют эпидемиологические исследования, касающиеся оценки распространенности СЖ, а данные о популяционно-генетических особенностях *UGT1A1* малочисленны [3,4].

Цель исследования: детекция генетического полиморфизма (ТА)5/6/7/8 (rs8175347) в гене *UGT1A1* (синдром Жильбера — СЖ) методом пиросеквенирования у пациентов в амбулаторной практике.

Материал и методы

Проведено одноцентровое открытое клиническое исследование. Обследовано 200 пациентов в возрасте 15–86 лет; мужчин — 107 (53,5%), женщин — 93 (46,5%), обратившихся в амбулаторную сеть по разным поводам (острые и хронические инфекции, соматическая патология, обследование, получение справок, стоматологическая помощь, консультации специалистов, вакцинопрофилактика и др.). Выборочная совокупность пациентов была сформирована случайным отбором. Анализ генетического полиморфизма (ТА)5/6/7/8 (rs8175347) в гене *UGT1A1* осуществляли методом пиросеквенирования с использованием системы генетического анализа серии РугоМарк «АмплиСенс®Пироскрин *UGT1A1*» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора) [5,6]. Ранее показано, что методом пиросеквенирования можно выявлять и другие варианты полиморфизма (ТА)5/6/7/8 СЖ в гомо- и гетерозиготном состоянии. В качестве сравнения использовали секвенирование по Sanger.

Результаты

Нормальный генотип (ТА)6/(ТА)6 установлен у 71 (35,5%) пациента; (ТА)6/(ТА)7 (гетерозиготное состояние) — у 81 (40,5%), (ТА)7/(ТА)7 (гомозиготное состояние) — у 48 (24%). У 18 из 48 обследованных 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). Время первичного установления диагноза СЖ у этих пациентов существенно варьировало — от 3 до 54 лет. Особенностью клинической картины явилось отсутствие повышения неконъюгированного билирубина (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 и 90 мкмоль/л, соответственно. У 30/48 пациентов СЖ был установлен впервые, в половине случаев у лиц старшей возрастной группы (после 60 лет). Ни у одного из них ранее не на-

блюдалось повышения уровня билирубина. Кроме того СЖ диагностирован у 19 (39,6%) из 48 обследованных с различными заболеваниями органов пищеварения, а в 11/19 случаях — с хроническими вирусными гепатитами В и С. Редкие генотипы (ТА)5/(ТА)6, (ТА)5/(ТА)7, (ТА)6/(ТА)8, (ТА)7/(ТА)8 обнаружены не были. Результаты детекции вариантов (ТА)6 и (ТА)7 в гомо- и гетерозиготном состоянии при пиросеквенировании и секвенировании по Sanger совпадали в 100%.

Литература

1. Wagner K.H., Shiels R.G., Llang C.A., Seyed Khoei N., Bulmer A.C. Diagnostic criteria and contributors to Gilbert's syndrome. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2018;55(2):129–139. doi: 10.1080/10408363.2018.1428526.
2. Lee J.S., Wang J., Martin M., Germer S., Kenwright A., Benayed R., Spleiss O., Platt A., Pilson R., Hemmings A., Weinblatt M.E., Kaplowitz N., Krasnow J. Genetic variation in *UGT1A1* typical of Gilbert syndrome is associated with unconjugated hyperbilirubinemia in patients receiving tocilizumab. *Pharmacogenet. Genomics.* 2011; 321(7): 365–374. doi: 10.1097/FPC.0b013e32834592fe.
3. Ильченко Л.Ю., Дроздов В.Н., Шулятьев И.С., Петраков А.В., Карабанов А.В. Синдром Жильбера: клинико-генетическое исследование. *Тер. архив.* 2006;2:48–42.
4. Волков А.Н., Цуркан Е.В. Мутация гена *UGT1A1* как маркер высокого риска возникновения синдрома Жильбера: научно-прикладные аспекты. Анализ риска здоровью. 2019;2:123–129. doi: 10.21668/health.risk/2019.2.14.
5. Nyrén P. The History of Pyrosequencing. *Methods Mol. Biol.* 2015;1315:3–15. doi: 10.1007/978-1-4939-2715-9_1.
6. Дрибнохотова О.П., Миронов К.О., Дунаева Е.А., Шипулин Г.А. Определение полиморфизма (ТА)6(ТА)7 в гене *UGT1A1* методом пиросеквенирования. *Молекулярная медицина.* 2014;2:38–40.

References

1. Wagner K.H., Shiels R.G., Llang C.A., Seyed Khoei N., Bulmer A.C. Diagnostic criteria and contributors to Gilbert's syndrome. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2018;55(2):129–139. doi: 10.1080/10408363.2018.1428526.
2. Lee J.S., Wang J., Martin M., Germer S., Kenwright A., Benayed R., Spleiss O., Platt A., Pilson R., Hemmings A., Weinblatt M.E., Kaplowitz N., Krasnow J. Genetic variation in *UGT1A1* typical of Gilbert syndrome is associated with unconjugated hyperbilirubinemia in patients receiving tocilizumab. *Pharmacogenet. Genomics.* 2011; 21(7): 365–374. doi: 10.1097/FPC.0b013e32834592fe.
3. Ilchenko L.Yu., Drozdov V.N., Shulyat'ev I.S., Petrakov A.V., Karabanov A.V. Sindrom Zhil'bera: kliniko-geneticheskoye issledovaniye [Gilbert's syndrome: clinical and genetic investigation]. *Terapevticheskiy arkhiv [Terapevticheskiy arkhiv]*. 2006; 2: 48–42. (In Russ.)
4. Volkov A.N., Tsurkan E.V. Mutatsiya gena *UGT1A1* kak marker vysokogo riska vozniknoveniya sindroma Zhil'bera: nauchno-prikladnyye aspekty [*UGT1A1* gene mutation as a marker indicating there is a high risk of Gilbert's syndrome: theoretical and applied aspects]. *Analiz riska zdorov'yu [Health risk analysis]*. 2019;2:123–129. doi: 10.21668/health.risk/2019.2.14 (In Russ.)
5. Nyrén P. The History of Pyrosequencing. *Methods Mol. Biol.* 2015;1315:3–15. doi: 10.1007/978-1-4939-2715-9_1.
6. Dribnokhodova O.P., Moronov K.O., Dunaeva E.A., Shipulin G.A. Opredeleniye polimorfizma (ТА)6(ТА)7 v gene *UGT1A1* metodom pirosekvenirovaniya [A pyrosequencing-based for the detection of *UGT1A1* (ТА)6(ТА)7 polymorphism]. *Molekulyarnaya meditsina [Molecular medicine]*. 2014;2: 38–40. (In Russ.)