

Gilbertov syndróm – choroba, rizikový faktor, ale aj evolučná výhoda?

Mgr. Slavka Požgayová¹, RNDr. Katarína Hlinková¹, Mgr. Michaela Čižmárová¹, MUDr. Gabriela Nagyová², MUDr. Iveta Čierna, PhD.³

¹Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky 2. detskej kliniky LF UK a DFNSP, Bratislava

²Ambulancia lekárskej genetiky 2. detskej kliniky LF UK a DFNSP, Bratislava

³Gastroenterologická ambulancia 2. detskej kliniky LF UK a DFNSP, Bratislava

Gilbertov syndróm je najčastejšou formou nekonjugovanej hyperbilirubinémie. Je spôsobený mutáciou v géne UGT1A1, ktorá vedie k zníženiu aktivity kľúčového enzýmu zodpovedného za konjugáciu bilirubínu. V diagnostike tohto stavu má dnes významné miesto molekulovo-genetické vyšetrenie, ktoré umožňuje vyhnúť sa invazívnejším vyšetrovacím postupom. Kým v minulosti sa Gilbertov syndróm považoval za ochorenie asociované s rizikom vzniku žlčových kameňov a sférocytózy, v súčasnosti sa zvyšuje počet štúdií, ktoré pripúšťajú jeho pozitívnu koreláciu s ľudským zdravím. Prehľadový článok ponúka stručný pohľad na patogenézu, diagnostiku a prognostický význam Gilbertovho syndrómu.

Kľúčové slová: Gilbertov syndróm, hyperbilirubinémia, UGT1A1.

Gilbert's syndrome – a disease, risk factor, but also an evolutionary advantage?

Gilbert's syndrome is the most common cause of unconjugated hyperbilirubinemia caused by mutation in the gene UGT1A1. This mutation leads to the reduction of activity of a key enzyme responsible for the conjugation of bilirubin. Hyperbilirubinemia is often the only clinical manifestation of the disease, so it is necessary to exclude the severe forms of hepatobiliary diseases of different etiologies within the diagnosis. Molecular genetic testing has an important place in the diagnostic process, that allows to prevent the invasive diagnostic procedures. While in history Gilbert's syndrome was considered to be a disease associated with the risk of gallstones and spherocytosis, at present an increasing number of studies confirm the positive correlation with human health. This review offers the view into the pathogenesis, diagnostic and prognostic significance of Gilbert's syndrome.

Key words: Gilbert's syndrome, hyperbilirubinemia, UGT1A1.

Pediatr. prax, 2015, 16(3): 105–107

Gilbertov syndróm (GS) nie je choroba v klasickej zmysle slova, je to skôr častý a benígny dedičný variant metabolizmu bilirubínu, ktorý môže byť prítomný až u 6 % populácie. Je až päťkrát častejší u mužov, než u žien a zvyčajne sa klinicky po prvýkrát manifestuje v prepubertálnom a pubertálnom veku. Prejavuje sa mierne zvýšenou hladinou nekonjugovaného bilirubínu obzvlášť pri záťažových situáciách bez prítomnosti hemolýzy alebo príznakov ochorenia pečene (1).

Správna a spoľahlivá diagnostika Gilbertovho syndrómu je veľmi dôležitá vzhľadom na vysokú frekvenciu jeho výskytu a na potrebu jeho odlišenia od iných príčin nekonjugovanej hyperbilirubinémie (vrátane extravaskulárnej a intravaskulárnej hemolýzy, sideroblastickej anémie, erythropoetickej porfýrie, rabdomyolýzy, otravy olovom, srdcového zlyhania, portosystémových skratov, cirhózy pečene a mnohých ďalších príčin) (2). V danom článku chceme poukázať na súčasné možnosti molekulovo-genetickej diagnostiky GS. Zvýšenie povedomia o dostupnej genetickej diagnostike tohto stavu umožňuje v mnohých prípadoch zabrániť invazívnym dia-

gnostickým výkonom, akými sú biopsia pečene, či endoskopická cholangiografia a zmierniť obavy pacientov s týmto stavom.

Metabolizmus bilirubínu a jeho poruchy

Bilirubín vzniká rozpadom červeného krvného farbiva hému v endoplazmatickom retikule endotelialných buniek sleziny, pečene a kostnej drene. Takmer 80 % bilirubínu v tele pochádza zo zaniknutých červených krviniek. Zostávajúca časť pochádza z produktov neúčinnnej erythropoézy, myoglobínu a enzýmov obsahujúcich hém. Ľudský organizmus produkuje 250 až 400 mg bilirubínu denne (3).

Za fyziologických okolností sa viac ako 90 % sérového bilirubínu nachádza vo forme nekonjugovanej, nepolárnej, vo vode nerozpustnej molekuly viazanej na albumín. Nekonjugovaný bilirubín je transportovaný do pečene, kde sa uvoľňuje z väzby na albumín a vstupuje do hepatocytov. V membránach endoplazmatického retikula dochádza k jeho spojeniu s kyselinou glukuronovou za účasti UDP-glukuronyltransferázy (uridine diphosphate-glucuronyltransferase

1A1, UGT1A1). Touto konjugáciou sa bilirubín stáva vo vode rozpustnou látkou s odlišnými metabolickými, transportnými a vylučovacími vlastnosťami. Konjugovaný bilirubín je následne vylučovaný pečeňou ako súčasť žlče.

Poruchy metabolizmu bilirubínu môžu viesť k vzniku konjugovanej alebo nekonjugovanej hyperbilirubinémie. Konjugovaná hyperbilirubinémia je vo väčšine prípadov spôsobená poruchou transportu konjugovaného bilirubínu z hepatocytov do žlčových ciest. Nekonjugovaná hyperbilirubinémia vzniká buď z dôvodu zvýšenej tvorby bilirubínu, zníženého vychytávania alebo porušenej konjugácie (4).

Dedičné formy hyperbilirubinémie

V súčasnosti je známych niekoľko klinicky a geneticky dobre charakterizovaných dedičných foriem konjugovanej a nekonjugovanej hyperbilirubinémie.

Dedičné formy konjugovanej hyperbilirubinémie. Mutácie v génoch kódujúcich transportéry bilirubínu spôsobujú Dubin-Johnsonov syndróm resp. Rotorov syndróm. Obe dedičné konjugované hyperbilirubinémie sprevádza

prevrátený pomer vylučovaných izomérov koproporfyrínu v moči.

■ **Dubin-Johnsonov syndróm** je zriedkavé, nezávažné ochorenie spôsobené mutáciami v géne *ABCC2* (ATP väzobný kazetový proteín). Výsledkom sú poruchy v transporte endogénnych a exogénnych aniónov a konjugátov z hepatocytov, čo sa klinicky prejavuje vo forme rozvinutej konjugovanej hyperbilirubinémie.

■ **Rotorov syndróm** je zriedkavá a klinicky takmer asymptomatická hyperbilirubinémia vychádzajúca taktiež z defektu transportu konjugovaného bilirubínu (transportér pre OATP1B1 a OATP1B3)(5).

Dedičné formy nekonjugovanej hyperbilirubinémie vznikajú pri defekte génu *UGT1A1*, ktorý kóduje enzým UDP glukuronyltransferázu (*UGT1A1*). Podľa stupňa závažnosti defektu sa rozlišujú tri samostatné nozologické jednotky:

■ Najmenej závažný je **Gilbertov syndróm (GS)** charakterizovaný kolísavou hladinou nekonjugovaného bilirubínu v krvi, ktorá sa u dospelého jedinca obvykle pohybuje v rozmedzí 30 až 80 mmol/l (norma je menej ako 17 mmol/l).

■ Závažnejší je priebeh **Crigler-Najjarovho syndrómu typ II (CN-II)**. Pri tejto forme sa sérová koncentrácia nekonjugovanej hyperbilirubinémie pohybuje v rozmedzí 60 – 340 mmol/l. U pacientov je prítomná určitá zostatková aktivita proteínu *UGT1A*, a preto môže byť liečba fenobarbitalom účinná.

■ **Crigler-Najjarov syndróm typ I** je najzávažnejšia, život ohrozujúca forma dedičnej nekonjugovanej hyperbilirubinémie. Charakterizuje sa úplným chýbaním aktivity enzýmu *UGT1A*. Pri tejto forme sa bilirubín v sére pohybuje okolo 340 – 680 mmol/l a pokus o liečbu fenobarbitalom býva neúspešný. Crigler-Najjarov syndróm typ I je smrteľný už u novorodencov a dojčiat. Jedinou terapeutickou možnosťou u nich je transplantácia pečene.

Prevalencia oboch typov Crigler-Najjarovho syndrómu je veľmi nízka a celosvetovo bolo identifikovaných len niekoľko desiatok prípadov tohto ochorenia. Výskyt miernejších fenotypových variantov syndrómu však môže viesť k nejednoznačnému stanoveniu diagnózy (5).

Gilbertov syndróm

Bol po prvýkrát opísaný už v roku 1901 Augustinom Gilbertom a spolupracovníkmi (v nemeckej literatúre je známy aj ako Gilbert-Meulengrachtov syndróm). Prenáša sa autozóm-

Tabuľka 1. Dedičné formy nekonjugovanej hyperbilirubinémie (17, 18, 19)

Stupeň hyperbilirubinémie	Ochorenie	Aktivita <i>UGT1A1</i>	Sérová koncentrácia bilirubínu
Závažný	Criglerov-Najjarov syndróm typ 1	< 10 %	> 340 μmol/l
Stredne závažný	Criglerov-Najjarov syndróm typ 2	10 – 30 %	120 – 340 μmol/l
Mierny	Gilbertov syndróm	> 30 %	17 – 120 μmol/l

movo dominantným (pozitívna „vertikálna“ rodinná anamnéza) alebo autozómovo recesívnym spôsobom (negatívna rodinná anamnéza alebo pozitívna „horizontálna“ rodinná anamnéza) (6).

GS sa zvyčajne manifestuje v prepupertálnom až pubertálnom veku, a je pravdepodobne spôsobený inhibičným vplyvom mužského pohlavného hormónu, testosterónu na aktivitu enzýmu UDP-glukuronyltransferázy. Prítomnosť mierneho ikteru so žltkastým sfarbením kože a sklér je často jedinou klinickou manifestáciou. Žltkačka sa môže zvýrazniť pri dehydratácii, hladovaní, strese, menštruácii alebo pri súčasne prebiehajúcej infekcii. Rovnako boli opísané i ďalšie nešpecifické symptómy ako bolesti brucha, pocit plnosti, tlak v epigastriu, únava či zlá tolerancia tučných jedál. Nezriedka sa hyperbilirubinémia zistí náhodne pri vyšetrení krvi z iných dôvodov. V novorodeneckom období môže GS urýchliť nástup fyziologického ikteru a predĺžiť jeho priebeh.

GS sa považuje za benigný stav, ktorý nevyžaduje žiadnu špecifickú terapiu alebo dlhodobé sledovanie a nepoškodzuje funkciu pečene. Jeho diagnózu možno u pacienta s hyperbilirubinemiou stanoviť po vylúčení iných príčin nekonjugovanej hyperbilirubinémie, ktoré môžu signalizovať prítomnosť závažnejšieho ochorenia (7).

Genetika Gilbertovho syndrómu

V kaukazoidnej populácii je Gilbertov syndróm spôsobený genetickou zmenou v regulačnej, tzv. promótorovej oblasti génu *UGT1A1* umiestneného na druhom chromozóme v oblasti 2q37 (má 5 exónov s dĺžkou 218 kb). Za fyziologických podmienok je promótorová oblasť tvorená šiestimi opakujúcimi sa dvojicami nukleotidov „TA“ (T=tymín, A=adenín), táto sekvencia sa označuje ako „A(TA)6TAA“. GS v kaukazskej a afro-americkéj populácii najčastejšie vzniká v prípade inzercie ďalšej dvojice nukleotidov „TA“ so vznikom sekvencie „A(TA)7TAA“. Heterozygotné nosičstvo tohto variantu génu (t.j. genotyp „A(TA)7TAA, A(TA)6TAA“) je spojené s 30 % redukciami intenzity tvorby enzýmu *UGT1A1*, kým u homozygotných nositeľov sek-

vencie „A(TA)7TAA“ (t.j. genotyp „A(TA)7TAA, A(TA)7TAA“) sa intenzita tvorby enzýmu redukuje až o 70 %.

Druhou, menej častou príčinou GS je bodová mutácia „c.-3279T>G“ tiež v nekódujúcej oblasti génu *UGT1A1*, ktorý pôsobí ako tzv. „enhancer“, čiže zosilňovač prepisu génu do proteínu, a vedie k redukcii aktivity enzýmu až o 80 % (8).

Pre zaujímavosť treba dodať, že aj závažné formy dedičnej nekonjugovanej hyperbilirubinémie (Crigler-Najjarov syndróm typ I a II) sú spôsobené mutáciami génu *UGT1A1*. V týchto prípadoch však genetický defekt nepostihuje regulačné sekvencie génu, ale priamo časť jeho fylogeneticky vysoko zachovanej („konzervovanej“) kódujúcej oblasti. Pri Crigler-Najjarovom syndróme typ II (CNS-2) dochádza k tvorbe menej aktívneho enzýmu *UGT1A1*, zatiaľ čo Crigler-Najjarov syndróm typ II (CNS-2) je takmer vždy spôsobený tzv. „nezmyselnou“ (missense) mutáciou s kompletným chýbaním tvorby aktívneho enzýmu (9).

Genetická diagnostika Gilbertovho syndrómu. Podozrenie na Gilbertov syndróm zvyčajne vzniká na základe výsledkov anamnestického, fyzikálneho a bežného biochemického vyšetrenia séra. Historicky používali na potvrdenie diagnózy aj záťažové testy – je známe, že sérová koncentrácia bilirubínu sa už po krátkodobom hladovaní zvýši, zatiaľ čo podávanie fenobarbitalu vedie k poklesu jeho hladiny (10). V súčasnosti sa tieto a podobné testy považujú za obsolentné vzhľadom na dostupnosť rýchlejšej, spoľahlivej a neinvazívnej molekulovo-genetickej diagnostiky tohto stavu.

Genetická diagnostika je dostupná v Laboratóriu klinickej a molekulovej genetiky 2. detskej kliniky LF UK a DFNSP. Za predpokladu, že klinické a biochemické hodnoty spĺňajú kritériá Gilbertovho syndrómu, sa v prvej fáze určujú oba najčastejšie polymorfizmy génu *UGT1A1* (pozri vyššie). Počet opakovaných TA sekvencií génu *UGT1A1* sa stanovuje pomocou fragmentačnej analýzy v genetickom analyzáto-re, kým vyšetrenie bodovej mutácie c.-3279T>G v enhancerovej oblasti génu *UGT1A1* sa realizuje metódou polymorfizmu dĺžky reštrikčných fragmentov (RFLP) (11).

V prípade negatívneho nálezu sa v rámci diferenciálnej diagnostiky nekonjugovanej hyperbilirubinémie odporúča sekvenčná analýza celej kódujúcej oblasti génu *UGT1A1* za účelom vylúčenia Crigler-Najjarovho syndrómu.

Nové poznatky o hyperbilirubinémii u pacientov s Gilbertovým syndrómom

Epidemiologické štúdie súborov pacientov s Gilbertovým syndrómom priniesli v ostatnom čase zaujímavé nové poznatky o tomto syndróme, ako aj o patofyziologickom význame nekonjugovanej hyperbilirubinémie. Ukázalo sa, že riziko vzniku ischemickej choroby srdca u jedincov s Gilbertovým syndrómom zapríčineným alelou „A(TA)7TAA“ v homozygotnom stave je až o 2/3 nižší ako v zdravej populácii, pričom táto redukcia sa pripisuje zvýšenému antioxidačnému statusu u pacientov (12). Presný mechanizmus tohto nálezu nie je známy, je však pravdepodobné, že súvisí s antioxidačnými vlastnosťami bilirubínu. Ďalšie štúdie upozornili na asociáciu mierne zvýšenej koncentrácie bilirubínu so zníženým rizikom vzniku vybraných typov onkologických ochorení. Predpokladá sa, že vyššie hladiny bilirubínu a nižšia aktivita bilirubín transferázy prispievajú k ochrane pred vznikom malígneho procesu. Viacerými štúdiami bola potvrdená asociácia GS so zníženým rizikom vzniku a vývoja rakoviny endometria a Hodgkinovho lymfómu (13). Nakoniec, aj u diabetických pacientov s GS bol zistený nižší výskyt cievnych komplikácií, pravdepodobne v dôsledku redukcie markerov oxidačného stresu a zápalu (14). Tieto asociačné štúdie poskytujú zaujímavé príklady potenciálne protektívnych účinkov miernej nekonjugovanej hyperbilirubinémie, čo môže vysvetľovať evolučné zachovanie týchto GS ako genetického variantu a jeho relatívne vysokú prevalenciu v populácii.

Gilbertov syndróm – čomu sa má pacient vyhýbať? Ľudia so zníženou aktivitou enzýmu UGT1A1 by nemali dostávať lieky, ktoré inhibujú aktivitu tohto enzýmu v pečeni, k takým liekom patrí napr. atazanavir a indinavir, ktoré sa používajú v liečbe infekcie HIV, gemfibrozil, liek na znižovanie sérového cholesterolu a irinotecan, ktorý sa podáva v liečbe kolorektálneho karcinómu (15). Statíny sa iba čiastočne metabolizujú prostredníctvom enzýmu UGT1A1 a môžu byť bezpečne podávané väčšine pacientov s Gilbertovým syndrómom.

Účasť enzýmu UGT1A1 na metabolizme paracetamolú môže vyvolať u niektorých osôb s Gilbertovým syndrómom pomalšie vylúčovanie lieku z organizmu. Preto sa odporúča v prípade potreby podávať pri tejto diagnóze iné antipyretiká či analgetiká.

Nakoniec, ľudia s týmto syndrómom majú nižšiu toleranciu na požitie alkoholových nápojov (16).

Literatúra

1. Saki F, Hemmati F, Haghghat M. Prevalence of Gilbert syndrome in parents of neonates with indirect hyperbilirubinemia. *Ann Saudi Med.* 2011;31(2):140–144.
2. Kaplan M, Bromiker R, Hammerman C. Hyperbilirubinemia, hemolysis, and increased bilirubin neurotoxicity. *Seminars in Perinatology.* 2014;38(7):429–437.
3. Bhagavan NV, Chung-Eun H. Metabolism of iron and heme. *Essentials of Medical Biochemistry (Second Edition)* 2015, Chapter 27, 511–529.
4. Sticova E, Jirsa M. New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. *World J Gastroenterol.* 2013;19(38):6398–407.
5. Strassburg CP. Hyperbilirubinemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson, and Rotor syndrome). *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 2010;24:555–571.
6. Fretzayas A, Moustaki M, Liapi O, Karpathios T. Gilbert syndrome. *Eur J Pediatr.* 2012;171(1):11–5.
7. Jhaveri KD, Federman DG. Gilbert Syndrome: Clinical Significance in the 21st Century. *Federal Practitioner.* 2008;vol 44–50.

8. Matsui K, Maruo Y, Sato H, Takeuchi Y. Combined effect of regulatory polymorphisms on transcription of UGT1A1 as a cause of Gilbert syndrome. *BMC Gastroenterology.* 2010;10:57.
9. Asl JM, Tabatabaiefar MA, Galehdari H, et al. UGT1A1 gene mutation due to Crigler-Najjar syndrome in iranian patients: Identification of a novel mutation. *BioMed Res Intern.* 2013;ID 34237:1–6.
10. Chovancová D. Phenobarbital v liečbe zdravých novorodencov s hyperbilirubinémiou – áno alebo nie? *Pediatr. prax.* 2010;11(1).
11. Hu RT, Wang NY, Huang MJ, et al. Multiple variants in UGT1A1 in gene are factors to develop indirect hyperbilirubinemia. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3(4):194–198.
12. Kundur AR, Singh I, Bulmer AC. Bilirubin, platelet activation and heart disease: A missing link to cardiovascular protection in Gilbert syndrome. *Atherosclerosis.* 2015;239:73–84.
13. Yri OE, Ekstrøm PO, Hilden V, et al. Polymorphisms in genes encoding interleukin-10 and drug metabolizing enzymes GSTP1, GSTT1, GSTA1 and UGT1A1 influence risk and outcome in Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2012;53:1934–44.
14. Vitek L, Schwertner HA. The heme catabolic pathway and its protective effects on oxidative stress-mediated diseases. *Adv Clin Chem* 2007;43:1–57.
15. X Liu, D Cheng, Q Kuang, et al. Association of UGT1A1*28 polymorphisms with irinotecan-induced toxicities in colorectal cancer: a meta-analysis in Caucasians. *The Pharmacogenomics Journal.* 2014;14:120–129.
16. Marques SC, Ikediobi ON. The clinical application of UGT1A1 pharmacogenetic testing: Gene-environment interactions. *Human Genomics.* 2010;4(4):238–249.
17. Nowicki MJ, Poley JR. The hereditary hyperbilirubinemia. *Baillière's Clinical Gastroenterology.* 1998;12:355–367.
18. Bosma PJ, Goldhoorn B, Oude Elferink RP, Sinaasappel M, Oostra BA, Jansen PL. A mutation in bilirubin uridine 50 diphosphate-glucuronosyltransferase isoform 1 causing Crigler-Najjar syndrome type II. *Gastroenterology.* 1993;105:216–20.
19. Arias IM. Chronic unconjugated hyperbilirubinemia without overt signs of hemolysis in adolescents and adults. *J Clin Invest.* 1962;41:2233–2245.

Mgr. Slavka Požgayová

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky 2. detskej kliniky LF UK a DFNSP, Bratislava
Limbová 1, 833 40 Bratislava
pozgayova.slavka@gmail.com