Характеристика молекулярно-генетических дефектов и клинических особенностей в группе пациентов с наследственным ангионевротическим отеком 1-го и 2-го типов

Н.Б. Кузьменко, Е.А. Викторова, А.В. Павлова, М.А. Курникова, А.Л. Лаберко, Е.В. Райкина, А.Ю. Щербина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Наследственный ангионевротический отек (НАО) – редкое аутосомно-доминантное заболевание, вызванное преимущественно снижением количества и/или нарушением функции С1-ингибитора вследствие мутаций в гене *SERPING1* (C1NH). Заболевание проявляется отеками различной степени тяжести и локализации, нередко опасными для жизни. До сих пор нет четких данных о корреляции между мутацией в гене *SERPING1* и течением НАО. Цель исследования: оценка разнообразия мутаций при данной нозологической форме, выявление корреляции между разными типами генетических дефектов и тяжестью клинических проявлений заболевания. В исследуемую группу вошли 69 человек с НАО из 30 семей и 7 бессимптомных носителей мутаций. Анализ мутаций в гене SERPING1 проводили при помощи прямого секвенирования и метода MLPA. В зависимости от типа мутации пациентов с клиническими проявлениями НАО разделили на две группы: первая – с мутациями, потенциально приводящими к выраженному дефекту белка (включая мутацию в функциональном центре в позиции R466C), вторая – с миссенс-мутациями (кроме R466C). Всего идентифицировано 27 различных мутаций, 11 из которых описаны впервые. Наибольшее число (7 мутаций) обнаружено в 7 экзоне; выявлена большая часть (5 из 27) крупных делеций. Тяжесть течения заболевания оценивали по комплексной шкале: более тяжелое течение выявили у пациентов первой группы по сравнению со второй группой (медиана – 7 и 5 соответственно; $p = 0,03$). Несмотря на возможность постановки диагноза «НАО» с применением клинических и лабораторных исследований, молекулярно-генетическая диагностика играет важную роль в обследовании пациентов с НАО 1-го и 2-го типов, а также их бессимптомных родственников, так как дает возможность ранней постановки диагноза и прогнозирования тяжести течения заболевания с целью раннего начала патогенетической терапии.

Ключевые слова: *наследственный ангионевротический отек, ген SERPING1, генотип, фенотип, молекулярно-генетическая диагностика.*

Контактная информация:
Кузьменко Наталья Борисовна, канд. мед. наук, зав. отделом оптимизации лечения иммунодефицитов, врач аллерголог-иммунолог консультативно-диагностического отделения НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 5541
E-mail: plunge@list.ru

DOI: 10.24287/ 1726-1708-2017-16-4-35-42

Genetic and clinical characteristics of a group of patients with hereditary angioedema type 1 and 2

N.B. Kuzmenko, E.A. Viktorova, A.V. Pavlova, M.A. Kurnikova, A.L. Laberko, E.V. Raikina, A.Y. Shcherbina

Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Hereditary angioedema (HAE) is a rare disease with autosomal dominant inheritance predominantly caused by decrease of C1 inhibitor level and/or function as a result of *SERPING1* (*C1NH*) gene mutations. HAE patients develop edema of variable severity and localization, often life-threatening. The data on correlation of *SERPING1* defects and HAE clinical course is conflicting. Aim: To study the variability of genetic defects in HAE, their correlation with the severity of disease symptoms. The study group included 69 HAE patients from 30 families, as well as seven symptoms-free mutation carriers (all children). Mutations were assayed via direct sequencing and MLPA method. The patients were divided in two groups depending on the type of the mutation: group one included patients with potentially deleterious mutations (including the functional center R466C), the second – with less deleterious (missense) mutations, excluding R466C. We identified 27 different mutations, 11 have not been described previously. Exon 7 contained the most of them. We found a large proportion (5 out of 27) of large deletions. When disease severity was compared in two groups of patients we found it to be higher in the first group (Me – 7 in the first group, Me – 5 in the second, $p = 0.03$). Though clinical and laboratory data is enough to make the HAE diagnosis, molecular genetic testing is important for patients with HAE type 1 and 2, as well as for their symptoms-free relatives, as it allows an early diagnosis and prediction of the disease severity and a timely start of the targeted therapy.

Key words: *hereditary angioedema (HAE), SERPING1, genotype, phenotype, molecular genetics.*

Correspondence:
Natalia B. Kuzmenko, MD, Heat of the Department of Optimization of Treatment of Immunodeficiencies, Institute of Hematology, Immunology and Cell Technology Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russian Federation.
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (495) 287-6570, доб. 5541
E-mail: plunge@list.ru

Наследственный ангионевротический отек (НАО) – редкое аутосомно-доминантное заболевание, вызванное дефектом системы комплемента [1]. Клинически заболевание проявляется в виде спонтанных отеков различной локализации, в том числе в области дыхательных путей и брюшной полости, что не только представляет угрозу для жизни пациента, но и приводит к значимому нарушению качества жизни [1, 2]. Выделяют три типа НАО; наиболее распространенные – 1-й и 2-й типы, обусловленные дефектами в гене *SERPING1* [2, 3].

Ген *SERPING1* (*serpin peptidase inhibitor, clade* G (C1 inhibitor), member 1) (OMIM no. 606860; GenBankNM_000062.2), или C1INH, локализован на хромосоме 11q12-q13.1 и состоит из 8 экзонов и 7 интронов [4]. Ген кодирует белок С1-ингибитор, относящийся к семейству сериновых протеаз, который играет принципиальную роль в регуляции работы системы комплемента, калликреин-кининовой системы и системы свертывания крови [5, 6].

На сегодняшний день описано более 450 мутаций в гене *SERPING1*, приводящих к проявлениям НАО, большинство из них представлено в соответствующих базах данных (*Online Mendelian Inheritance in Man* – OMIM ID 106100) [7] и базе данных, объединяющей мутации в гене *SERPING1* (HAEdb, hae.enzim.hu) [8]). Мутации встречаются во всех экзонах и экзон-интронных соединениях гена. По мировым данным, наибольшая их концентрация отмечается в 5, 6 и 8 экзонах, наименьшая – в терминальном отделе гена [4].

Несмотря на большое количество известных мутаций, в различных когортах пациентов с НАО описываются все новые дефекты гена *SERPING1* [6, 9, 10]. Высокая частота возникновения новых мутаций обусловлена повышенной лабильностью гена [4]. Интересно, что среди всех спорадических случаев НАО около 20–25% составляют уже описанные ранее мутации, однако возникшие у данных пациентов *de novo* [11]. Одной из причин разнообразия мутагенных изменений считают близость *SERPING1* к центромере – региону, который наиболее подвержен «раскручиванию» в процессе клеточного деления [4]. Другая причина, объясняющая большое разнообразие мутаций в этом гене, – высокая частота повторяющихся элементов. Так, семь интронов гена содержат 17 Alu-повторяющихся последовательностей [12], которые представляют так называемые горячие точки (*hot spot*s) для негомологичных рекомбинаций. Повреждения таких участков – частая причина крупных делеций или дупликаций гена [13]. Большие мутационные участки Alu-повторов сконцентрированы в интронах 4 и 6, что делает эти участки гена наиболее нестабильными [4]. Кроме структурных особенностей, для гена *SERPING1* характерна высокая частота мутаций в сайтах CpG. Так же, как и участки Alu-повторов, CpG сайты представляют мутационные «горячие точки» и подвержены спонтанному дезаминированию [14].

Известно, что НАО наследуется преимущественно аутосомно-доминантным путем [2, 3, 11, 15, 16], описано лишь несколько случаев аутосомно-рецессивного наследования [17, 18].

При НАО 1-го типа наблюдаются снижение количества белка С1-ингибитора, а также его низкая функциональная активность. Большинство повреждений гена приводит именно к этому типу заболевания – около 80–85% всех случаев НАО [19–22]. При НАО 2-го типа синтезируется нефункциональный С1-ингибитор, и, несмотря на нормальное количество белка в плазме, это приводит, как и при 1-м типе, к развитию отеков [19, 20–22]. Такой вариант НАО связан с генетическим дефектом в 8 экзоне гена *SERPING1*, где закодирован функциональный центр белка С1-ингибитора [4, 6]. Интересно, что большинство описанных на данный момент пациентов с НАО 2-го типа имели одну и ту же мутацию в 8 экзоне в позиции Arg444 (согласно традиционной последовательности аминокислот) [23] или Arg466 (R466C) в рекомендациях HUGO [24]. Лишь одна мутация за пределами функционального центра – делеция Lys251 (Lys273) – была описана при НАО 2-го типа [25, 26].

Первые симптомы НАО, как правило, проявляются в детском возрасте, при этом в дебюте заболевания они нередко носят неспецифический характер (единичные эпизоды отеков, неспецифические боли в животе, которые на самом деле являются абдоминальными отеками) [27], что усложняет диагностику и раннее начало патогенетической терапии у пациентов. Учитывая большое количество дефектов гена *SERPING1* и разнообразные клинические проявления НАО, возникает вопрос о влиянии вида мутаций на тяжесть заболевания в целом, и в частности, на частоту, локализацию, выраженность приступов, возраст дебюта заболевания и, как следствие, на необходимость и объем патогенетической терапии. В настоящее время нет четких данных о прямой корреляции генотип–фенотип при развитии НАО, результаты исследований в различных популяциях противоречивы [2, 6, 8, 9,10, 28–30]. Одна из проблем при изучении корреляции генотип–фенотип при НАО – сложность оценки тяжести течения заболевания в силу разной выраженности и частоты возникновения отеков в разные периоды жизни пациента. На протяжении последних 50 лет были предложены различные подходы к классификации клинических проявлений НАО. Так, существуют шкалы оценки, которые учитывают возраст дебюта заболевания, выраженность, частоту возникновения, продолжительность и локализацию

отека [28–30]. В 2004 году Третья международная рабочая группа по С1-ингибитору выпустила рекомендации по оценке тяжести течения НАО, в которых учитывались частота приступов и интенсивность проявления симптомов. По совокупности набранных баллов заболевание подразделяли на асимптоматическую (0 баллов), легкую (≤ 4 баллов), среднетяжелую (5–6 баллов) и тяжелую (≥ 7 баллов) формы [29]. Однако при данном подходе не учитывался возраст дебюта болезни.

Другая шкала оценки тяжести, предложенная *A. Bygum* и *соавт.* [28], присваивает большее число баллов при дебюте симптомов в младшем возрасте. В этой шкале учитываются также органы, в которых развивался отек. Кроме того, в данной шкале необходимость долгосрочной профилактики у конкретного пациента увеличивает оценочную тяжесть заболевания. Однако данная шкала тяжести заболевания не учитывает интенсивность отека, которая играет важную роль для некоторых пациентов без ларингеальных и абдоминальных атак, но имеющих выраженные периферические отеки, отеки лица, нарушающие активность и затрудняющие посещение работы или школы.

На сегодняшний день не существует единой шкалы, учитывающей все нюансы клинической картины заболевания. В нашем исследовании за основу мы взяли шкалу, предложенную *A. Bygum* и *соавт.* [28], как наиболее информативную, на наш взгляд. Ее использовали и другие исследователи при определении корреляции генотип–фенотип [9, 31].

Целью нашего исследования были идентификация и анализ различных дефектов гена *SERPING1* у российских пациентов с клинико-лабораторной картиной НАО 1-го и 2-го типов и их родственников из 30 разных семей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследуемую группу вошли 69 пациентов (31 мужчина и 38 женщин) из 30 семей с клиническими проявлениями НАО (периферическими, ларингеальными отеками, отеками подкожной клетчатки головы и шеи, абдоминальными болями), лабораторными признаками заболевания (снижением уровня С1-ингибитора и/или его функциональной активности) и выявленным дефектом *SERPING1*. Их возраст на момент исследования составил от 1 года до 70 лет (медиана – 31 год).

Молекулярно-генетическая диагностика была проведена у 11 детей из семей с НАО без клинических проявлений; у 7 из них выявлены соответствующие генетические дефекты. Возраст 7 бессимптомных пациентов варьировал от 2 до 11 лет (медиана – 5 лет); они не были включены в оценку корреляции генотип–фенотип.

Все пациентов с клиническими проявлениями НАО (n = 69) были распределены на две группы в зависимости от типа мутации. *Первая группа* включала пациентов с более тяжелыми генетическими дефектами, потенциально приводящими к выраженному повреждению белка: с нонсенс-мутациями, дефектами сайтов сплайсинга, сдвигом рамки считывания, крупными делециями, а также миссенс-мутацией в позиции R466C, которая приводит к повреждению реактивного центра белка С1-ингибитора и, как следствие, выраженному снижению его функциональной активности, что характерно для НАО 2-го типа [4, 6, 21]. Во *вторую группу* вошли пациенты с потенциально менее разрушающими дефектами, а именно с миссенс-мутациями гена *SERPING1* (кроме миссенс-мутации, приводящей к замене R466C).

Оценка тяжести заболевания. Оценку выраженности клинических симптомов проводили согласно шкале, опубликованной *A. Bygum* и *соавт.* [28], несколько модифицированной нами: учитывались возраст дебюта заболевания (0–5 лет = 3 балла; 6–10 лет = 2 балла; 11–20 лет = 1 балл; > 20 лет = 0 баллов), локализация отеков (периферические отеки = 1 балл, абдоминальные отеки = 2 балла, ларингеальные отеки = 2 балла, отеки головы и лица = 1 балл) и необходимость долгосрочной профилактики (1 балл). В отдельную группу мы выделили отеки головы и лица (вместо отеков других локализаций). Критерии назначения профилактической терапии: отеки чаще, чем два раза в месяц, и/или отеки в области лица, живота, ларингоотеки хотя бы один раз в жизни. Таким образом, тяжесть заболевания мы оценивали в интервале от 1 до 10 баллов.

Молекулярно-генетическая диагностика. Геномная ДНК была выделена из образцов цельной крови с использованием набора реагентов «ДНК-сорб В» (ИнтерЛабСервис, РФ) согласно инструкции производителя. Для первого этапа диагностики применялся метод прямого секвенирования по Сенгеру, позволяющий выявить миссенс, нонсенс мутации, замены, небольшие делеции и инсерции без/со сдвигом рамки считывания, а также дефекты сайтов сплайсинга. Программа ПЦР и праймеры могут быть предоставлены по запросу.

Анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения *Variant Reporter* v2.0 и *Sequencing Analysis* v6.0. Для компьютерной оценки патогенности найденных миссенс-вариантов применялись программы предсказания патогенности замен аминокислот (SIFT, PROVEAN, PolyPhen-2, MutationTaster, UMD Predictor). Для компьютерного предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга или прилежащих к сайту сплайсинга участках использованы программы ASSP (*Alternative Splice Site Predictor*) и HSF 3.0 (*Human Splicing Finder*).

При анализе найденных вариантов в качестве референса использован транскрипт ENST00000278407.8, версия генома GRCh38.p10. Найденные генетические варианты в гене *SERPING1* названы в соответствии с номенклатурой, принятой HGVS (*Human Genome Variation Society*).

В случаях, когда мутация не была обнаружена методом секвенирования, образцы в дальнейшем проанализированы на предмет крупных делеций и/или инсерций с использованием мультиплексной лигаз-зависимой амплификации (MLPA). Для пробоподготовки использовали набор реагентов SALSA MLPA P243-A2 SERPING1 kit (MRC-Holland, The Netherlands). Анализ данных производили с помощью программного обеспечения Coffalyser MLPA data analysis (MCR-Holland, The Netherlands).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения XLSTAT2015. Для обработки данных в двух группах пациентов и проверки статистических гипотез о связи возраста, клинических признаков в группах с разными типами мутаций применяли U-критерий Манна–Уитни для непараметрических выборок. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$.

Таблица 1
Сравнение отдельных признаков у пациентов в двух группах

Клинические проявления	Первая группа, %	Вторая группа, %	*p*
Периферические отеки	94,4	93,3	0,8
Отеки лица	81,4	53,3	0,03
Абдоминальные отеки	87	67	0,1
Ларингеальные атаки	44,4	26	0,2
Необходимость профилактики	62,9	67,6	0,8
Смерть от отека	13,3	5,0	0,1

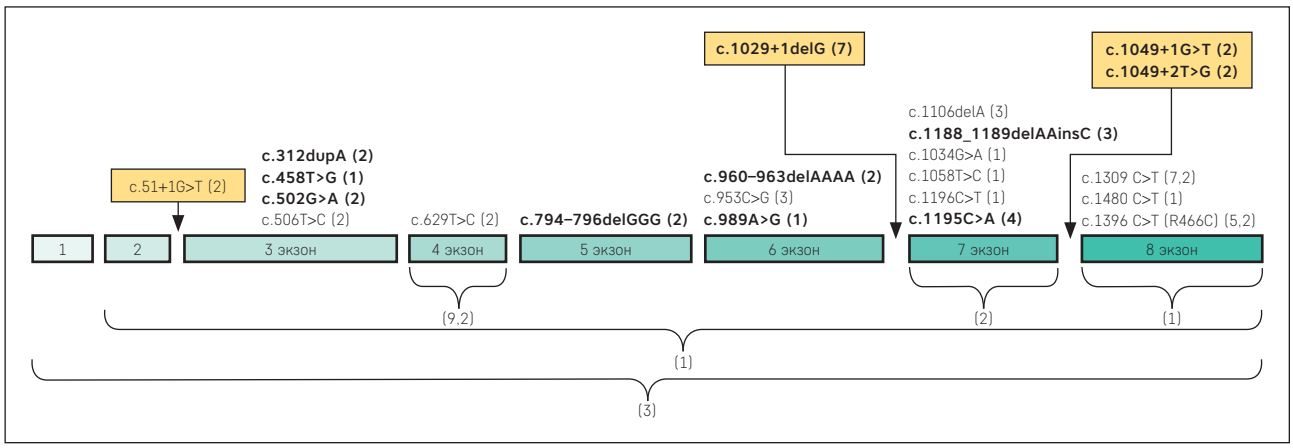
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Краткая характеристика пациентов и проявлений НАО. Диагноз «НАО» был подтвержден молекулярно-генетическим методом у 76 пациентов, включая 7 бессимптомных носителей. Среди пациентов с мутациями в гене *SERPING1* был 71 (93,4%) человек с НАО 1-го типа и 5 (6,6%) – с НАО 2-го типа. У большинства пациентов имелись родственники с НАО, лишь у 10 (14,4%) пациентов не выявлено семейного анамнеза заболевания.

Клинические проявления заболевания на момент исследования были отмечены у 69 человек (*табл.*). Время дебюта заболевания в данной когорте пациентов имело большой разброс – от 6 мес. до 40 лет (в среднем – 8,3 года; медиана – 6,0 лет). Периферические отеки имело подавляющее большинство пациентов – 65 (94,2%), они локализовались в подкожной клетчатке как верхних, так и нижних конечностей. Абдоминальные отеки наблюдались у 52 (75,3%) пациентов, отеки в области головы и лица – у 44 (70,9%). Ларингеальные атаки имели место у 28 (40,5%) пациентов, 5 (18%) из них скончались от удушья вследствие некупированного ларингеального отека. В получении профилактической терапии нуждались 44 (63,7%) пациента – больше, чем число пациентов с ларингеальными атаками в анамнезе, что отражает необходимость профилактической терапии не только у пациентов с ларингоатаками, но и у тех, кто имеет рецидивирующие абдоминальные или периферические отеки.

Анализ выявленных мутаций. В исследуемой группе у 76 пациентов из 30 семей идентифицировано 27 различных мутаций, все мутации в гетерозиготном состоянии. У 16 пациентов из 6 семей были обнаружены крупные делеции гена *SERPING1*.

Рисунок 1
Распределение мутаций в гене *SERPING1* в исследуемой группе пациентов: схема локализации и виды мутаций: всего 27 различных мутаций в 30 семьях



Примечание: цифры в скобках – количество пациентов и число семей (если более одной) с данной мутацией; в фигурных скобках – крупные делеции; стрелки указывают на повреждения сайтов сплайсинга; жирным шрифтом выделены ранее не описанные в литературе мутации.

Другие мутации локализовались в 3–8 экзонах, 2, 6, 7 интронах, наибольшее количество мутаций найдено в 7 экзоне.

Нами были идентифицированы три делеции нуклеотида и одна дупликация, а также одна делеция-вставка со сдвигом рамки считывания, четыре дефекта сайта сплайсинга, три нонсенс-мутации, десять миссенс-мутаций, включая R466C в 8 экзоне, и пять крупных делеций. Среди обнаруженных дефектов 16 мутаций были описаны ранее, 11 мутаций не указаны в HGMD и публикуются здесь впервые (*рис. 1*).

Мутации Q437* (c.1309C > T), R466C (c.1396C > T) и делеция 4 экзона обнаружены нами более чем в одной семье; эти семьи не имеют между собой родства.

Три мелкие делеции – c.960-963delA, c.1106delA, c.794-796 delG, одна дупликация A в положении c.312dupA и одна делеция-вставка c.1188_1189delAAinsC, приведшие к сдвигу рамки считывания, были обнаружены у 12 человек из пяти семей. Лишь одна из этих мутаций – c.1106delA – описана ранее [31], остальные публикуются впервые.

Четыре мутации сайта сплайсинга были обнаружены в четырех разных семьях у 17 человек. Три из четырех дефектов были локализованы в области экзон-интронного соединения 7 интрона: c.1249 + 1G > T, c.1249 + 2T > G, c.1029 + 1delG; один дефект – в области экзон-интронного соединения 2 экзона: c.51 + 1G > T. Только одна из четырех мутаций – c.51 + 1G > TG – встречается в литературе [32], остальные из найденных нами дефектов сайта сплайсинга не были описаны ранее.

Нонсенс-мутации Q437* (c.1309C > T), R494* (c.1480C > T), S318* (c.953C > G) встречались у 11 человек из четырех семей, все они описаны ранее [33–35]. Мутация R494* обнаружена у девочки с клиническими проявлениями НАО, но не найдена ни у одного из ее родителей, ни у ее брата, вследствие чего этот дефект можно считать *de novo*.

Девять миссенс-мутаций найдены у 15 человек из 9 семей; четыре из них ранее не описаны: P399T (c.1195C > A), A168T (c.502G > A), L153R (c.458T > G), Y330C (c.989A > G); остальные миссенс-мутации – L201P (c.629T > C), L353P (c.1058T > C), F169S (c.506T > C), P399L (c. 1196C > T) – ранее были описаны в литературе [34, 36–38].

Нами обнаружены пять различных крупных делеций в шести семьях. В двух разных семьях (у восьми и одного пациента соответственно) была обнаружена делеция 4 экзона. Кроме того, в отдельных семьях обнаружены делеции 7 и 8 экзонов, делеция 2–8 экзонов и полное выпадение гена *SERPING1*. Все крупные делеции описаны ранее в литературе [36, 37, 39, 40].

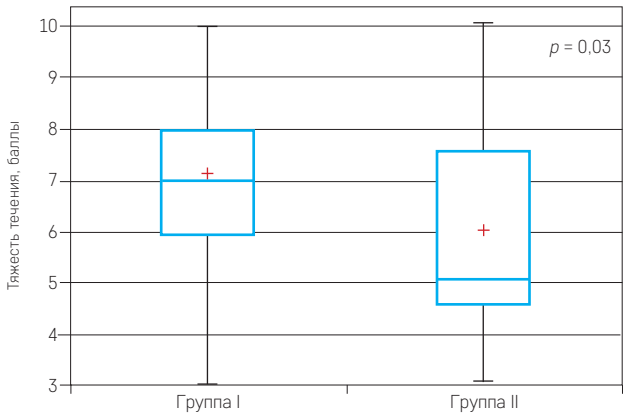
У всех наших пациентов с НАО 2-го типа (5 человек из двух семей) была найдена ранее описанная замена в реактивном центре 8 экзона – R466C (c.1396C > T) [14, 41, 42].

Семь бессимптомных родственников детского возраста являлись носителями следующих дефектов: R466C (c.1396C > T), F169S (c.506T > C), c.1106delA и c.1188_1189delAAinsC, c.1249 + 2T > G и c.1249 + 1G > T и делеции целого гена (1–8 экзоны).

Оценка корреляции генотип–фенотип. При оценке отдельных параметров клиники НАО в группах с более и менее патогенными мутациями мы не выявили разницы в частоте возникновения периферических отеков. Отеки гортани и живота чаще развивались в первой группе, чем во второй, однако эта разница не была статистически достоверна (*табл. 1*). Отеки лица достоверно чаще возникали у пациентов первой группы (p = 0,03). Возраст дебюта заболевания был несколько меньше у пациентов с более патогенными мутациями: в первой группе – от 0,5 до 40 лет (медиана – 6,0 лет); во второй группе – от 2 до 25 лет (медиана – 7,0 лет), но эта разница статистически не достоверна (p = 0,9). Частота смертельных исходов была в два раза выше в первой группе, однако и эта тенденция не достигла статистической достоверности (в первой группе – 13,3%; во второй группе – 5,0%; p = 0,1). Наконец, мы оценили совокупную тяжесть течения НАО с использованием описанной выше шкалы. Тяжесть заболевания в первой группе варьировала от 3 до 10 баллов (в среднем – 7,1; медиана – 7 баллов), во второй – от 3 до 10 баллов (в среднем – 6,3; медиана – 5 баллов). Таким образом, в первой группе пациенты имели достоверно более тяжелый клинический фенотип заболевания по сравнению со второй группой (p = 0,03) (*рис. 2*).

Рисунок 2

Корреляция тяжести течения заболевания и типа мутации у пациентов разных групп: группа I – пациенты с нонсенс-мутациями, дефектами сайта сплайсинга, сдвигом рамки считывания, крупными делециями, миссенс-мутацией R466C; группа II – пациенты с миссенс-мутациями, кроме R466C



Примечание: + – среднее значение; горизонтальная линия – медиана тяжести заболевания, баллы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

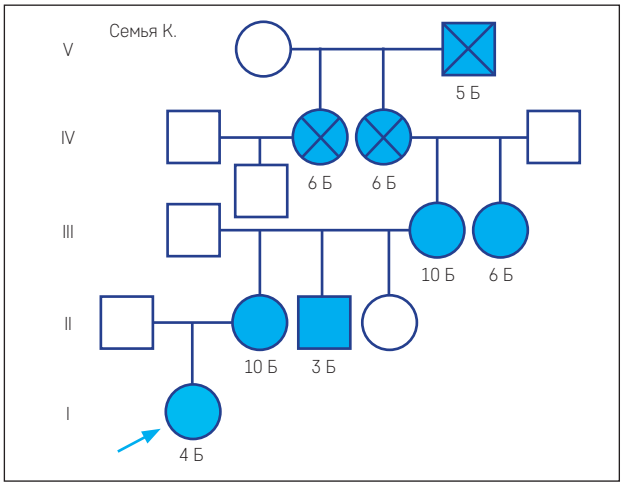
Проведенное нами исследование позволило охарактеризовать молекулярно-генетические дефекты в группе российских пациентов с НАО 1-го и 2-го типов. Генетические варианты *SERPING1* в нашей группе обследованных локализованы в области 3–8 экзонов и во 2, 6, 7 интронах. В отличие от зарубежных групп, мы не выявили мутаций в 1 и 2 экзонах. Интересно, что в другом исследовании российской группы больных с НАО также не было выявлено мутаций во 2 экзоне гена *SERPING1* [43]. Наибольшее число дефектов у пациентов нашей группы локализовалось в 7 экзоне (примерно четвертая часть – 7 из 27), в отличие от описанного преобладания мутаций в 5, 6 и 8 экзонах [4, 7, 8]. Возможно, такое распределение дефектов в гене *SERPING1* характерно именно для российской популяции. Выявление 11 новых вариантов мутаций подтверждает описанный раннее высокий уровень мутагенеза гена *SERPING1* [4, 12–14]. Кроме того, в нашей группе мы обнаружили большую часть крупных делеций (5 из 27). Эти данные говорят о том, что при наличии клинико-лабораторных признаков НАО и отсутствии дефекта при использовании метода прямого секвенирования по Сенгеру необходимо проводить у пациентов поиск крупной делеции другими доступными методами.

Напротив, при подозрении на НАО 2-го типа, при котором уровень С1 ингибитора при биохимическом анализе соответствует нормальным значениям, но отмечается нарушение его функциональной активности, достаточно проведения прямого секвенирования. Однако поскольку, по литературным и нашим данным, НАО 2-го типа вызван в основном дефектом в 8 экзоне гена *SERPING1*, где закодирован функциональный (реактивный) центр [2, 3, 19, 20], при подозрении на этот тип заболевания разумно исследовать непосредственно 8 экзон для генетического подтверждения диагноза, а в большинстве случаев нет необходимости проводить секвенирование всего гена *SERPING1*. Такой подход к диагностике НАО 2-го типа позволит сократить финансовые и временные затраты на подтверждение диагноза молекулярно-генетическим путем, а также уменьшить гипердиагностику НАО 2-го типа, основанную только на определении функциональной активности С1-ингибитора.

При обследовании здоровых на момент исследования детей в семьях, где у родственников были выявлены дефекты в гене *SERPING1,* аналогичные мутации обнаружены более чем у половины из них (у 7 из 11 человек). Этот факт подтверждает высокую распространенность дефекта в разных поколениях семей с НАО, основанную на аутосомно-доминантном типе наследования, и говорит о необходимости не только лабораторного, но и молекулярно-генетического обследования родственников с целью ранней постановки этого диагноза. Выявление НАО еще до начала клинических проявлений важно как для своевременного купирования атак при дебюте заболевания, так и для психологической готовности родственников ребенка и информированности педиатра, наблюдающего пациента. Кроме того, обследование детей раннего возраста, родственники которых страдают НАО, на предмет обнаружения генетического дефекта, найденного в семье, – единственно возможный метод диагностики заболевания, поскольку в этой возрастной группе биохимические показатели (уровень С1-ингибитора в плазме крови, его функциональная активность) недостоверны [44, 45].

Некоторые ранее проведенные исследования не смогли выявить корреляцию между видом мутации и тяжестью течения НАО. В нашем исследовании отмечены тенденции к более раннему дебюту заболевания, более частому развитию отеков живота и гортани у пациентов с более патогенными мутациями. Исследование показало также, что тяжесть заболевания, оцененная как совокупность признаков, значимо выше у пациентов с более патогенными отеками. Таким образом, мы, как и *S. Andrejević* и *соавт.* [9], продемонстрировали возможность использования вида мутации *SERPING1* в качестве прогностического фактора. Отличие от более ранних исследований, не зафиксировавших такой корреляции, состоит, возможно, в применяемой шкале тяжести заболевания, различном делении пациентов на группы, различных возрастных характеристиках исследуемых групп. Кроме того, известно, что при аутосомно-доминантных заболеваниях, которым является НАО, на клинические проявления генотипа могут влиять различные факторы – например, эпигенетические, полиморфиз-

Рисунок 3
Генеалогическое древо, иллюстрирующее аутосомно-доминантный тип наследования заболевания в пяти поколениях: пациенты с клиническими проявлениями и мутацией в гене *SERPING1* обозначены голубыми фигурами; арабскими цифрами – выраженность заболевания по шкале тяжести, баллы



мы других генов, факторы окружающей среды [4, 6, 17, 18, 23, 25]. Так, в семьях, где имелось множество пациентов с НАО в разных поколениях, у них нередко отмечалась разница в тяжести течения заболевания. В семье с делецией 4 экзона (*рис. 3*) у пробанда в первом поколении (I, обозначен стрелкой) отмечен ранний дебют заболевания, проявляющийся периферическими отеками с 1-го года жизни (тяжесть заболевания – 4 балла); у его матери клиническая картина представлена всем многообразием клинических проявлений НАО с дебютом в возрасте 5 лет (тяжесть – 10 баллов); родной брат матери страдает исключительно периферическими отеками в области конечностей, возникающими после физической нагрузки. В следующем поколении (III) представлены две родные сестры: у одной из них заболевание протекает тяжело, с абдоминальными и ларингеальными атаками (тяжесть – 10 баллов), а у ее сестры – значительно менее интенсивно, ларингеальных, абдоминальных атак и отеков в области лица у нее не отмечено (тяжесть – 6 баллов). Таким образом, несмотря на то, что у большинства членов этой семьи тяжесть заболевания соответствует «патогенности» генетического дефекта, у некоторых из них НАО протекает легче.

ВЫВОДЫ

Высокая частота отеков живота и гортани, а также наличие смертей от отеков в обеих группах обследованных нами пациентов говорят о том, что даже при более благоприятном прогнозе заболевания у них имеются риски развития отеков, угрожающих жизни, они должны иметь постоянный доступ к патогенетическим препаратам для немедленного купирования обострения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ
Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ
Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID
Н.Б. Кузьменко http://orcid.org/0000-0002-1669-8621
Е.А. Викторова http://orcid.org/0000-0002-2427-1417
А.В. Павлова http://orcid.org/0000-0002-3974-5662
М.А. Курникова http://orcid.org/0000-0003-0900-6874
А.Л. Лаберко http://orcid.org/0000-0002-2354-2588
Е.В. Райкина http://orcid.org/0000-0002-7634-2053
А.Ю. Щербина http://orcid.org/0000-0002-3113-4939

Литература

1. Donaldson V.H., Evans R.R. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema. Am J Med 1963; 35: 37–44.
2. Cicardi M., Igarashi T., Kim M.S., Frangi D., Agostoni A., Davis A.E. 3rd Restriction fragment length polymorphism of the C1-inhibitor gene in hereditary angioneurotic edema. J Clin Invest 1987; 80: 1640–3.
3. Stoppa-Lyonnet D., Tosi M., Laurent J., Sobel A., Lagrue G., Meo T. Altered C1 inhibitor genes in type I hereditary angioedema. N Engl J Med 1987; 317: 1–6.
4. Germenis A.E., Speletas M. Genetics of Hereditary Angioedema Revisited Clin Rev Allergy Immunol 2016 Oct; 51 (2): 170–82.
5. Cugno M., Zanichelli A., Bellatorre A.G., Griffini S., Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patients with angioedema because of C1-inhibitor deficiency. Allergy 2009; 64: 254–7.
6. Ferraro M.F., Moreno A.S., Castelli E.C., Donadi E.A., Palma M.S., Arcuri H.A., et al. A single nucleotide deletion at the C1 inhibitor gene as the cause of hereditary angioedema: insights from a Brazilian family. Allergy 2011 Oct; 66 (10): 1384–90.
7. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Shaw K., Phillips A., Cooper D.N. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. Hum Genet 2014; 133: 1–9.
8. Kalmár L., Hegedüs T., Farkas H., Nagy M., Tordai A. HAEdb: a novel interactive, locus-specific mutation database for the C1 inhibitor gene. Hum Mutat 2005; 25: 1–5.
9. Andrejević S., Korošec P., Šilar M., Košnik M., Mijanović R., Bonači-Nikolić B., Rijavec M. Hereditary Angioedema Due to C1 Inhibitor Deficiency in Serbia: Two Novel Mutations and Evidence of Genotype – Phenotype Association. PLoS One 2015 Nov 4; 10 (11): e0142174.
10. Speletas M., Szilagyi A., Psarros F., Moldovan D., Magerl M., Kompoti M., et al. Hereditary angioedema:Molecular and clinical differences among European populations. J Allergy Clin Immunol 2015; 135: 570–3.
11. Pappalardo E., Cicardi M., Duponchel C., Carugati A., Choquet S., Agostoni A., Tosi M. Frequent de novo mutations and exon deletions in the C1 inhibitor gene of patients with angioedema. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 1147–54.
12. Tosi M., Duponchel C., Bourgarel P., Colomb M., Meo T. Molecular cloning of human C1 inhibitor: sequence homologies with α1-antitrypsin and other members of the serpins superfamily. Gene 1986; 42: 265–72.
13. Stoppa-Lyonnet D., Carter P.E., Meo T., Tosi M. Clusters of intragenic Alu repeats predispose the human C1 inhibitor locus to deleterious rearrangements. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 1551–5.
14. Skriver K., Radziejewska E., Silbermann J.A., Donaldson V.H., Bock S.C. CpG mutations in the reactive site of human C1 inhibitor. J Biol Chem 1989; 264: 3066–71.
15. Cicardi M., Zingale L., Zanichelli A., Pappalardo E., Cicardi B. C1 inhibitor: molecular and clinical aspects. Springer Semin Immunopathol 2005; 27: 286–98.
16. Дмитриева А.В., Близнец Е.А., Латышева Т.В., Поляков А.В. Случай аутосомно-рецессивного наследования ангионевротического отека I типа.

Национальная конференция. Российский аллергологический журнал, 2012, №1, вып. 1, 98–101.
17. López-Lera A., Favier B., de la Cruz R.M., Garrido S., Drouet C., López-Trascasa M. A new case of homozygous C1-inhibitor deficiency suggests a role for Arg378 in the control of kinin pathway activation. J Allergy Clin Immunol 2010; 126: 1307–10.
18. Bafunno V., Divella C., Sessa F., Tiscia G.L., Castellano G., Gesualdo L., et al. De novo homozygous mutation of the C1 inhibitor gene in a patient with hereditary angioedema. J Allergy Clin Immunol 2013; 132: 748–50.
19. Pappalardo E., Caccia S., Suffritti C., Tordai A., Zingale L.C., Cicardi M. Mutation screening of C1 inhibitor gene in 108 unrelated families with hereditary angioedema: functional and structural correlates. Mol Immunol 2008; 45: 3536–44.
20. Cugno M., Zanichelli A., Bellatorre A.G., Griffini S., Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patients with angioedema because of C1-inhibitor deficiency. Allergy 2009; 64: 254–7.
21. Zuraw B.L. Clinical practice. Hereditary angioedema. N Engl J Med 2008; 359: 1027–36.
22. Bowen T., Cicardi M., Farkas H., Bork K., Longhurst H.J., Zuraw B., et al. 2010 International consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema. Allergy Asthma Clin Immunol 2010; 6: 24.
23. Carter P.E., Duponchel C., Tosi M., Fothergill J.E. Complete nucleotide sequence for the C1 inhibitor with an unusually high density of Alu elements. Eur J Biochem 1991; 197: 301–8.
24. Antonarakis S.E. The Nomenclature Working Group Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Hum Mutat 1998: 11: 1–3.
25. Parad R.B., Kramer J., Strunk R.C., Rosen F.S., Davis A.E. Dysfunctional C1 inhibitor Ta: deletion of Lys-251 results in acquisition of an N-glycosylation site. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 6786–90.
26. Longhurst H., Cicardi M. Hereditary angio-oedema. Lancet 2012; 379: 474–81.
27. Kuzmenko N.B., Dibirova S.A., Varlamova T.V., Raikina E.V., Viktorova E.A., Shcherbina A.Yu. Principles of diagnosis and treatment of hereditary angioedema. Pediatric Haematology/Oncology and Immunopathology 2016; 15 (1): 54–60.
28. Bygum A., Fagerberg C.R., Ponard D., Monnier N., Lunardi J., Drouet C. Mutational spectrum and phenotypes in Danish families with hereditary angioedema because of C1 inhibitor deficiency. Allergy 2011; 66: 76–84.
29. Agostoni A., Aygoren-Pursun E., Binkley K.E., Blanch A., Bork K., Bouillet L. et al. Hereditary and acquired angioedema: problems and progress: proceedings of the third C1 esterase inhibitor deficiency workshop and beyond. J Allergy Clin Immunol 2004; 114:51–131.
30. Bors A., Csuka D., Varga L., Farkas H., Tordai A., Füst G., et al. Less severe clinical manifestations in patients with hereditary angioedema with missense C1INH gene mutations. J Allergy Clin Immunol 2013; 131: 1708–11.
31. Kalmár L., Bors A., Farkas H., Vas S., Fandl B., Varga L., Füst G., Tordai A. Mutation screening of the C1 inhibitor gene among Hungarian patients with hereditary angioedema. Hum Mutat 2003 Dec; 22 (6): 498.
32. Yamamoto T., Horiuchi T., Miyahara H., Yoshizawa S., Maehara J., Shono E., et al. Hereditary angioedema in Japan: genetic analysis of 13 unrelated cases. Am J Med Sci 2012 Mar; 343 (3): 210–4.
33. Bafunno V., Bova M., Loffredo S., Divella C., Petraroli A., Marone G., et al. Mutational spectrum of the c1 inhibitor gene in a cohort of Italian patients with hereditary angioedema: description of nine novel mutations. Ann Hum Genet 2014 Mar; 78 (2): 73–82.
34. Verpy E., Biasotto M., Brai M., Misiano G., Meo T., Tosi M. Exhaustive mutation scanning by fluorescence-assisted mismatch analysis discloses new genotype-phenotype correlations in angiodema. Am J Hum Genet 1996 Aug; 59 (2): 308–19.
35. Pedrosa M., Phillips-Angles E., López-Lera A., López-Trascasa M., Caballero T. Complement Study Versus CINH Gene Testing for the Diagnosis of Type I Hereditary Angioedema in Children. J Clin Immunol 2016 Jan; 36 (1): 16–8.
36. Roche O., Blanch A., Duponchel C., Fontán G., Tosi M., López-Trascasa M. Hereditary angioedema: the mutation spectrum of SERPING1/C1NH in a large Spanish cohort. Hum Mutat 2005 Aug; 26 (2): 135–44.
37. Gösswein T., Kocot A., Emmert G., Kreuz W., Martinez-Saguer I., Aygören-Pürsün E., et al. Mutational spectrum of the C1INH (SERPING1) gene in patients with hereditary angioedema. Cytogenet Genome Res 2008; 121 (3–4):181–8.
38. Yakushiji H., Kaji A., Suzuki K., Yamada M., Horiuchi T., Sinozaki M. Hereditary Angioedema with Recurrent Abdominal Pain in a Patient with a Novel Mutation. Intern Med 2016; 55 (19): 2885–7.
39. López-Lera A., Garrido S., Roche O., López-Trascasa M. SERPING1 mutations in 59 families with hereditary angioedema. Mol Immunol 2011; 49: 18–27.
40. Stoppa-Lyonnet D., Duponchel C., Meo T., Laurent J., Carter P.E., Arala-Chaves M., et al. Recombinational biases in the rearranged C1-inhibitor genes of hereditary angioedema patients. Am J Hum Genet 1991 Nov; 49 (5): 1055–62.
41. Sim D.W., Park K.H., Lee J.H., Park J.W. A Case of Type 2 Hereditary Angioedema With SERPING1 Mutation. Allergy Asthma Immunol Res 2017 Jan; 9 (1): 96–8.
42. Firinu D.P., Manconi P.E., Barca M.P., Fenu L., Piseddu G., Zizzo C., et al. Identification of a novel and recurrent mutation in the SERPING1 gene in patients with hereditary angioedema. Clin Immunol 2013; 147 (2): 129–32.
43. Дмитриева А.В., Ильина Н.И., Медуницына Е.Н., Латышева Т.В., Поляков А.В. Генетические аспекты наследственных ангиоотеков. Российский иммунологический журнал 2010, т. 4 (13), №4, с. 431.
44. Nielsen E.W., Johansen H.T., Holt J., Mollnes T.E. C1 inhibitor and diagnosis of hereditary angioedema in newborns. Pediatr Res1994; 35: 184–7.
45. Nurnberger W., Stannigel H., Muntel V., Michelmann I., Wahn V., Gobel U. In-vivo activation of the 4th component of the complement system (C4) in premature and term infants with generalized bacterial infections. Klin Padiatr 1990; 202: 141–6.