

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Восточная
Европа

lab.recipe.by

2020, том 9, № 4

Основан в 2011 г.

Беларусь

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь 02.12.2011
Регистрационное свидетельство № 1496

Учредитель:
УП «Профессиональные издания»
при участии Республиканского научного
общества специалистов клинической
лабораторной диагностики Беларуси

Адрес редакции:
220049, Минск, ул. Кнорина, 17
Тел.: +375 (17) 322 16 77, +375 (17) 322 16 78
e-mail: lab@recipe.by

Директор Евтушенко Л.А.
Заместитель главного редактора Жабинский А.В.
**Руководитель службы рекламы
и маркетинга** Коваль М.А.
Технический редактор Нужин Д.В.

Украина

Журнал зарегистрирован
Государственной регистрационной
службой Украины 02.12.2014
Регистрационное свидетельство № 21184-10984ПР

Учредители:
Национальная медицинская академия
последипломного образования имени П.Л. Шупика
УП «Профессиональные издания»

Офис в Украине:
ООО «Профессиональные издания. Украина»
04116, Киев, ул. Старокиевская, 10-г, сектор «В»,
офис 201

Контакты:
тел.: +38 (044) 33 88 704, +38 (067) 102 73 64
e-mail: pl_info@ukr.net

Подписка

в каталоге РУП «Белпочта» (Беларусь)
индивидуальный индекс **01389**
ведомственный индекс **013892**

в каталоге ОАО «Арзи» (Российская Федерация)
индекс **01389**

в каталоге АО «Казпочта» (Казахстан)
индекс **01389**

В Украине подписка оформляется через офис
ООО «Профессиональные издания. Украина»

01389 – единый индекс в электронных каталогах
«Газеты и журналы» на сайтах агентств:
ООО «Информнаука» (Российская Федерация),
АО «МК-Периодика» (Российская Федерация),
ООО «Прессинформ» (Российская Федерация),
ООО «НПО «Информ-система» (Российская Федерация),
ГП «Пресса» (Украина),
ГП «Пошта Молдовей» (Молдова),
АО «Летувос паштас» (Литва),
Kibon&Sagner (Германия),
ООО «Подписное агентство PKS» (Латвия),
Фирма «INDEX» (Болгария)

Электронная версия журнала доступна
на сайте lab.recipe.by, в Научной электронной
библиотеке eLibrary.ru, в базе данных East View,
в электронной библиотечной системе IPRbooks

По вопросам приобретения журнала обращайтесь
в редакцию в Минске
и офис в Киеве

Журнал выходит 1 раз в 3 месяца.
Цена свободная

Подписано в печать 20.11.2020.
Тираж в Беларуси 1000 экз.
Тираж в Украине 2000 экз.
Заказ №

Формат 70x100 1/16. Печать офсетная

Отпечатано

Производственное дочернее унитарное предприятие
«Типография Федерации профсоюзов Беларуси».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№2/18 от 26.11.2013.
пл. Свободы, 23-103, г. Минск.
ЛП №02330/54 от 12.08.2013.

Беларусь

Украина

Главный редактор

Камышников Владимир Семенович,
д.м.н., профессор, заведующий кафедрой
клинической лабораторной диагностики
Белорусской медицинской академии
последипломного образования

Редакционная коллегия:

Алехнович Л.И., к.м.н., доц. (Минск)
Бадыгина Н.А., к.б.н. (Минск)
Беляев С.А. (Минск)
Вергун О.М., к.б.н., доц. (Минск)
Владимирская Т.Э., к.б.н. (Минск)
Гусина Н.Б., к.м.н., доц. (Минск)
Державец Л.А., д.б.н. (Минск)
Долгов В.В., д.м.н., проф. (Москва)
Доценко Э.А., д.м.н., проф. (Минск)
Дубровский А.Ч., к.м.н. (Минск)
Качеровская Е.Р. (Минск)
Коломиец Н.Д., д.м.н., проф. (Минск)
Коневалова Н.Ю., д.б.н., проф. (Витебск)
Костюк С.А., д.м.н., проф. (Минск)
Кочетов А.Г., д.м.н. (Москва)
Кузьменко А.Т., к.м.н., доц. (Минск)
Лелевич В.В., д.м.н., проф. (Гродно)
Ляликов С.А., д.м.н., проф. (Гродно)
Новикова И.А., д.м.н., проф. (Гомель)
Поталнев М.П., д.м.н., проф. (Минск)
Прохорова В.И., д.м.н., проф. (Минск)
Смирнова Л.А., д.м.н., проф. (Минск)
Смолякова Р.М., д.б.н., проф. (Минск)
Таганович А.Д., д.м.н., проф. (Минск)
Хуторян Л.М. (Челябинск)

Главный редактор

Клименко Сергей Викторович,
д.м.н., профессор, заведующий кафедрой
клинической лабораторной диагностики
Национальной медицинской академии
последипломного образования имени П.Л. Шупика

Редакционная коллегия:

Бодня Е.И., д.м.н., проф. (Харьков)
Воронцова Л.Л., д.м.н., проф. (Запорожье)
Вьюницкая Л.В., к.б.н., доц. (Киев)
Гавриленко Т.И., д.б.н., проф. (Киев)
Ермоленко Т.А., д.м.н., проф. (Одесса)
Завадецкая Е.П., к.м.н., доц. (Киев)
Зяблицев С.В., д.м.н., проф. (Донецк)
Игнатъев А.М., д.м.н., проф. (Одесса)
Клиш И.Н., д.б.н., проф. (Тернополь)
Криницкая И.Я., д.м.н., проф. (Тернополь)
Лаповец Л.Е., д.м.н., проф. (Львов)
Леонтьева Ф.С., к.б.н. (Харьков)
Липкан Г.Н., д.м.н., проф. (Киев)
Магомедов А.М., д.б.н., проф. (Киев)
Мацегора Н.А., д.м.н., проф. (Одесса)
Медведева И.М., к.м.н. (Сумы)
Олейник Е.А., к.м.н., доц. (Киев)
Проценко В.Н., к.м.н., доц. (Харьков)
Ткач Ю.И., д.м.н., проф. (Харьков)
Хейломский А.Б. (Киев)
Шахнин Д.Б., к.х.н. (Киев)
Якимова Т.П., д.м.н., доц. (Харьков)
Ястремська О.О., к.м.н., доц. (Львов)

Рецензируемое издание

Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований. Решение коллегии ВАК от 24.10.2012 (протокол № 06-18/2).

Журнал включен в базы данных Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO, РИНЦ.

Ответственность за точность приведенных фактов, цитат, собственных имен и прочих сведений, а также за разглашение закрытой информации несут авторы.

Редакция может публиковать статьи в порядке обсуждения, не разделяя точки зрения автора.

Ответственность за содержание рекламных материалов и публикаций с пометкой «На правах рекламы» несут рекламодатели.

International Scientific Journal

LABORATORY Diagnostics

Eastern Europe

Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa

lab.recipe.by

2020 Volume 9 Number 4

Founded in 2011

Belarus

The journal is registered
in the Ministry of information
of the Republic of Belarus 02.12.2011
Registration certificate № 1496

Founder:
UE "Professional Editions" with the participation
of the Republican scientific society of experts of the clinical
laboratory diagnostics of Belarus

Address of the editorial office:
220049, Minsk, Knorin str., 17
Phone: +375 (17) 322 16 77, +375 (17) 322 16 78
e-mail: lab@recipe.by

Director Evtushenko L.
Deputy editor-in-chief Zhabinski A.
Head of advertising and marketing Koval M.
Technical editor Nuzhin D.

Ukraine

The journal is registered
at the State registry of Ukraine 02.12.2014
Registration certificate № 21184-10984PR

Founders:
Shupyk National Medical Academy
of Postgraduate Education
UE "Professional Editions"

Office in Ukraine:
LLC "Professional Editions. Ukraine"
04116, Kyiv, Starokievskaya str., 10-g, sector "B",
office 201

Contacts:
phone: +38 (044) 33 88 704, +38 (067) 102 73 64
e-mail: pl_info@ukr.net

Subscription
in the Republican unitary enterprise "Belposhta"
individual index **01389**
departmental index **013892**

in catalogue JSC "ARZI" (Russian Federation)
index **01389**

in JSC "Kazpochta" catalogue (Kazakhstan)
index **01389**

In Ukraine the subscription is made out through office
LLC "Professional Edition. Ukraine"

Index **01389** in the electronic catalogs "Newspapers
and Magazines" on web-sites of agencies:
LLC "Informnauka" (Russian Federation),
JSC "MK-Periodika" (Russian Federation),
LLC "Pressinform" (Russian Federation),
LLC "SPA "Inform-system" (Russian Federation),
SE "Press" (Ukraine),
SE "Poshta Moldovey" (Moldova),
JSC "Letuvos pashtas" (Lithuania),
Kubon&Sagner (Germany),
LLC "Subscription Agency PKS" (Latvia),
INDEX Firm agency (Bulgaria)

The electronic version of the journal
is available on lab.recipe.by,
on the Scientific electronic library eLibrary.ru,
in the East View database, in the electronic
library system IPRbooks

Concerning acquisition of the journal address
to the editorial office in Minsk
and the office in Kyiv

The frequency of journal is 1 time in 3 months.
The price is not fixed

Sent for the press 20.11.2020.
Circulation in Belarus is 1000 copies
Circulation in Ukraine is 2000 copies
Order №

Format 70x100 1/16 Litho

Printed in printing house

© "Laboratory diagnostics. Eastern Europe"

Copyright is protected. Any reproduction of materials of the edition is possible only with written
permission of edition with an obligatory reference to the source.

© "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2020

© Design and decor of "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2020

Belarus

Ukraine

Editor-in-Chief Vladimir S. Kamyshnikov,
Doctor of Medical Sciences, Professor,
Head of the Clinical Laboratory
Diagnostics Department
of the Belarusian Medical Academy
of Postgraduate Education (Minsk)

Editor-in-Chief Sergiy V. Klimenko,
Doctor of Medical Sciences, Professor,
Head of the Clinical Laboratory Diagnostics
Department of the Shupyk National
Medical Academy of Postgraduate
Education (Kyiv)

Editorial Board:

Alekhnovich L., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Badygina N., Cand. of Biol. Sci. (Minsk)
Beliaev S. (Minsk)
Derzhavets L., Dr. of Biol. Sci. (Minsk)
Dolgov V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Moscow)
Dotsenko E., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Dubrovsky A., Cand. of Med. Sci. (Minsk)
Gusina N., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Hutoryan L. (Chelyabinsk)
Kacherovskaya E. (Minsk)
Kochetov A., Dr. of Med. Sci. (Moscow, Russia)
Kolomiets N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Konevalova N., Dr. of Biol. Sci., Prof. (Vitebsk)
Kostyuk S., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Kuzmenko A., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Lelevich V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Grodno)
Lyalikov S., Dr. of Med. Sci., Prof. (Grodno)
Novikova I., Dr. of Med. Sci., Prof. (Gomel)
Potapnev M., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Prokhorova V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Smirnova L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Smolyakova R., Dr. of Biol. Sci., Prof. (Minsk)
Taganovich A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Vergun O., Cand. of Biol. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Vladimirskaya T., Cand. of Biol. Sci. (Minsk)

Editorial Board:

Bodnya E., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kharkiv)
Ermolenko T., Dr. of Med. Sci., Prof. (Odessa)
Gavrilenko T., Dr. of Biol. Sci., Prof. (Kyiv)
Ignatyev A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Odessa)
Kheilomskyi A. (Kyiv)
Klishch M., Dr. of Biol. Sci., Prof. (Ternopil)
Krinitskaya I., Dr. of Med. Sci., Prof. (Ternopil)
Lapovets L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Lviv)
Leont'eva F., Cand. of Biol. Sci. (Kharkiv)
Lipkan G., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Magomedov A., Dr. of Biol. Sci., Prof. (Kyiv)
Matsegora N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Odessa)
Medvedeva I., Cand. of Med. Sci. (Sumy)
Oliylyk E., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Kyiv)
Protsenko V., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Kharkiv)
Tkach Yu., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kharkiv)
Shakhnin D., Cand. of Chemic. Sci. (Kyiv)
Vorontsova L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Zaporizhia)
Vyyunitskaya L., Cand. of Biol. Sci., Assoc. Prof. (Kyiv)
Yakimova T., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kharkiv)
Yastremska O., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Lviv)
Zavadetskaya E., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Kyiv)
Zyablitsev S., Dr. of Med. Sci., Prof. (Donetsk)

Peer-Reviewed Edition

The journal is included into a List of scientific publications of the Republic of Belarus for the publication of the results of the dissertation research. HCC board decision of 12.10.2012 (protocol № 06-18/2).

The journal is included in the databases Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO, RSCI.

Responsibility for the accuracy of the given facts, quotes, own names and other data, and also for disclosure of the classified information authors bear.

Editorial staff can publish articles as discussion, without sharing the point of view of the author.

Responsibility for the content of advertising materials and publications with the mark "On the Rights of Advertising" are advertisers.

Уважаемые читатели!

В представленном вашему вниманию номере журнала опубликована статья, авторы которой – сотрудники кафедры клинической лабораторной диагностики БелМАПО, опираясь на накопленный ими богатый опыт выполнения клиничко-лабораторных гематологических исследований, высказали вполне обоснованное, на наш взгляд, суждение о том, что в ряде часто встречающихся ситуаций целесообразно дополнительное, после выполнения автоматизированного гематологического исследования, обращение к оценке морфологической картины крови путем микроскопического анализа окрашенных мазков с целью уточнения лабораторного диагноза заболевания. Данное обстоятельство вызывает необходимость создания системы стандартизации критериев морфологической оценки изменений клеточных элементов в препаратах мазков крови. В качестве фундаментального «ориентира» для совершенствования номенклатуры и классификации видов морфологических изменений эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов предлагается использовать вышедшие в свет в 2015 г. рекомендации Международного комитета по стандартизации в гематологии.

Получила дальнейшее развитие затронутая в предыдущем номере журнала тема о молекулярно-биологических факторах, влияющих на диагностическую надежность результатов лабораторных исследований, выполняемых с использованием технологий ПЦР-анализа.

Привлекает внимание и представленная в материалах журнала информация о возможности лечения пациентов с сахарным диабетом 1-го типа с использованием тактики совместного применения мезенхимальных клеток и клеточных элементов островков Лангерганса.

Представляется весьма перспективным использование разработанного сотрудниками РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии высокотехнологичного метода определения основных конечных продуктов разрушения катехоламинов – гомованилиновой и ванилилиндральной кислот в разовой порции мочи не только в онкогематологической практике, но и при ряде других форм патологии.

В преддверии наступающего 2021 года хотелось бы пожелать всем читателям журнала крепкого здоровья, счастья, больших творческих успехов в профессиональной и научно-практической деятельности.

Главный редактор в Беларуси
Камышников Владимир Семенович





Уважаемые коллеги!

В год основания журнала «Лабораторная диагностика. Восточная Европа» первый главный редактор в Украине доктор медицинских наук, профессор Анна Геннадиевна Лунева писала, что на страницах издания «...будут представляться материалы, раскрывающие современные возможности лабораторной медицины». Следует отметить, что редакция все время следовала этому принципу, отбирая статьи, посвященные самым разнообразным разделам лабораторной медицины, особое внимание уделяя результатам новаторских экспериментальных и клинических разработок, диссертационных исследований. В журнале также находят отражение основные сведения о достижениях и проблемах в области образования специалистов лабораторной медицины, вопросы организации работы медицинских лабораторий. Профессор А.Г. Лунева считала, что в последние годы в отношении лабораторной медицины «...сложились новые предпосылки для переоценки ее роли в общей системе клинических дисциплин, что обусловлено требованиями, которые выдвигаются в связи со стремительным развитием современных подходов и принципов доказательной и персонализированной медицины, более глубоким пониманием характера междисциплинарных отношений». Поэтому редакция стремится, чтобы та информация, которую получают со страниц журнала читатели, была интересной не только специалистам в области лабораторной медицины, но и врачам других специальностей, помогала им, открывала новые возможности, вооружая более эффективными инструментами помощи пациентам. Благодаря всему этому за годы существования журнал занял значимое место среди профильных периодических изданий, он востребован медицинским сообществом. В результате слаженных усилий коллектива редакции, авторов и рецензентов была завоевана широкая читательская аудитория. Для меня большая честь участвовать в подготовке журнала в качестве главного редактора в Украине.

Развитие журнала продолжается и должно отвечать на вызовы времени. Актуальной для мировой науки стала проблема коронавирусной инфекции, и мировое научное сообщество фокусирует внимание на усовершенствовании диагностики COVID-19, вопросах постинфекционного иммунитета. Материалы нашего издания должны помочь читателям получить самую современную информацию о разработках и достижениях в этой области, ускорить их внедрение в практическую деятельность. Быстро растет спрос

общества на лабораторные тесты. Для раннего выявления и профилактики заболеваний необходимы высокоточные технологии тестирования и индикаторы мониторинга, поскольку они позволяют врачам своевременно диагностировать пациентов и правильно их лечить. Мы надеемся, что журнал будет полезен в решении проблем внедрения высоких технологий в практику здравоохранения и осветит новые направления клинико-лабораторных исследований.

Выражаю коллективу редакции, редакционной коллегии, авторам искреннюю признательность за развитие журнала, так необходимого специалистам в области лабораторной медицины. Приглашаю к еще более активному сотрудничеству коллег из Украины, Беларуси и других стран. Желаю всем авторам и читателям журнала творческих успехов в научных исследованиях и новых свершений!

Главный редактор в Украине
Клименко Сергей Викторович



Организация деятельности клинико-лабораторной службы

Актуальность внедрения лабораторных информационных систем в практику медицинских лабораторий 346

К обсуждению рекомендаций ICSH (International Council for Standardization in Hematology) по стандартизации номенклатуры и оценке морфологических признаков клеток периферической крови
Дальнова Т.С., Алехнович Л.И., Батуревич Л.В., Инаишвили М. 348

Молекулярно-биологические факторы, влияющие на диагностическую надежность результатов лабораторных исследований на основе технологий ПЦР-анализа.
Сообщение II
Костюк С.А., Полуян О.С. 366

Структура и динамика острых отравлений с летальным исходом в Республике Беларусь в 2016–2018 годах
Борисевич С.Н., Гришенкова Л.Н., Богдан А.Н., Боровикова Л.Н. 375

Оригинальные исследования

Эффект и механизмы влияния мезенхимальных стволовых клеток на жизнеспособность и функциональную активность островков Лангерганса in vitro: перспективы их совместного применения при сахарном диабете I типа
Назарова Е.А., Петровская Е.Г., Сыманович А.А., Гомон А.А., Примакова Е.А., Дедюля Н.И., Смольникова В.В., Кривенко С.И. 388

Исследование вклада функциональных полиморфизмов генов внутреннего пути свертывания крови (F12-46С/Т и KLKB1-428G/A) в клинический фенотип врожденного ангионевротического отека
Гурьянова И.Е., Любушкин А.В., Полякова Е.А., Жаранкова Ю.С., Пугачёва В.В., Скопонец Е.Я., Саливончик А.П., Алешкевич С.Н., Белевцев М.В. 401

Особенности клинико-лабораторного проявления нарушений иммунного статуса у пациентов с atopическим дерматитом
Зыблева С.В., Сердюкова О.А. 413

Глутамат сыворотки крови при аутизме и других нарушениях психоречевого развития у детей
Митюкова Т.А., Докукина Т.В., Полулях О.Е., Богданович И.П., Короткевич Т.В., Захаревич О.Ю., Мартыненко А.И. 420

Клиническая микробиология

Вирусные инфекции у детей и молодых взрослых после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток
Амвросьева Т.В., Аринович А.С., Богуш З.Ф., Кишкурно Е.П., Марейко Ю.Е., Минаковская Н.В. 431

Новые технологии в лабораторной диагностике

Современный подход к дифференциальной диагностике ВГЧ-6 инфекции у детей на основе анализа концентрации ДНК ее возбудителя
Шилова Ю.А., Амвросьева Т.В., Аринович А.С., Дивакова Е.В., Кишкурно Е.П., Поклонская Н.В. 438

Определение уровней гомованилиновой кислоты и ванилилминдальной кислоты в разовой порции мочи методом ВЭЖХ-МС как новый эффективный метод в диагностике нейроblastомы у пациентов детского возраста
Пролесковская И.В., Баслык К.С., Ермилова Т.В., Липай Н.В. 444

Метод подготовки проб крови на твердых сорбентах для количественного определения вальпроевой кислоты способом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием
Вергун О.М., Камышиников В.С., Богомолов А.Н. 457

Organization of Clinical Laboratory Service Work

Discussion of the ICSH (International Council for Standardization in Hematology) Recommendations on the Standardization of the Nomenclature and Assessment of Morphological Characteristics of Peripheral Blood Cells
Dalnova T., Alekhnovich L., Baturevich L., Inaishvili M. 348

Molecular-Biological Factors Influencing Diagnostic Reliability of the Results of Laboratory Studies Based on PCR Analysis. Report II
Kostiuk S., Poluyan O. 366

Structure and Dynamics of Acute Poisonings with Lethal Outcome in the Republic of Belarus in 2016–2018
Borisevitch S., Grishenkova L., Bohdan A., Borovikova L. 375

Original Researches

Effect and Mechanisms of Influence of the Mesenchymal Stem Cells on the Viability and Functional Activity of the Islets of Langerhans in Vitro: Prospects of Their Joint Use in Type I Diabetes Mellitus
Nazarova E., Petrovskaya E., Symanovich A., Gomon A., Primakova E., Dedyulya N., Smolnikova V., Krivenko S. 388

The Contribution of Functional Polymorphisms of the Contact Activation System (F12-46C/T and KLKB1-428G/A) to the Clinical Phenotype of Hereditary Angioedema
Guryanova I., Liubushkin A., Polyakova E., Zharankova Yu., Pugacheva V., Skapavets K., Salivonchik A., Aleshkevich S., Belevtsev M. 401

Peculiarities of the Immune Status of Patients with Atopic Dermatitis
Zybleva S., Serdyukova O. 413

Serum Glutamate in Children with Autism and Other Disorders of Psycho-Speech Development
Mityukova T., Dokukina T., Poluliakh O., Bogdanovich I., Korotkevich T., Zakharevich V., Martynenka A. 420

Clinical Microbiology

Viral Infections in Children and Young Adults after Allogenic Transplantation of Hematopoietic Stem Cells
Amvrosieva T., Arinovich A., Bogush Z., Kishkurno E., Mareika Yu., Minakovskaya N. 431

New Technologies in Laboratory Diagnostics

Modern Approach to Differential Diagnosis of HHV-6 Infection in Children Based on the Analysis of the DNA Concentration of its Causative Agent
Shilova Yu., Amvrosieva T., Arinovich A., Divakova E., Kishkurno E., Paklonskaya N. 438

Measurement of Homovanilic Acid and Vanilylmandelic Acid in Random Urine Sample with the Method HPLC-MS as a New Effective Method in Diagnostics of Neuroblastoma in Children
Praleskovskaya I., Baslyk K., Yermilova T., Lipay N. 444

Method of Preparing Blood Samples on Solid Sorbents for Quantitative Determination of Valproic Acid with Gas Chromatography and Mass Spectrometric Detection
Viarhun O., Kamyshnikov V., Bogomolov A. 457

DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2020.9.4.005>
УДК 575.174.015.3:616-009.863-053.1

Гурьянова И.Е.¹, Любушкин А.В.¹, Полякова Е.А.¹, Жаранкова Ю.С.¹, Пугачёва В.В.¹, Скоповец Е.Я.¹, Саливончик А.П.², Алешкевич С.Н.¹, Белевцев М.В.¹

¹ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Guryanova I.¹, Liubushkin A.¹, Polyakova E.¹, Zharankova Yu.¹, Pugacheva V.¹, Skapavets K.¹, Salivonchik A.², Aleshkevich S.¹, Belevtsev M.¹

¹ Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

Исследование вклада функциональных полиморфизмов генов внутреннего пути свертывания крови (F12-46C/T и KLKB1-428G/A) в клинический фенотип врожденного ангионевротического отека

The Contribution of Functional Polymorphisms of the Contact Activation System (F12-46C/T and KLKB1-428G/A) to the Clinical Phenotype of Hereditary Angioedema

Резюме

Введение. Врожденный ангионевротический отек (ВАО) – редкое генетическое заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, характеризующееся рецидивирующим ангионевротическим отеком любой области тела. Наиболее опасными являются отеки верхних дыхательных путей, которые могут привести к удушью и смерти, если вовремя не применить адекватную терапию.

Цель. Изучить вклад функциональных полиморфизмов генов внутреннего пути свертывания крови (F12-46C/T и KLKB1-428G/A) в клинический фенотип врожденного ангионевротического отека вследствие дефицита C1-ингибитора в когорте пациентов Республики Беларусь.

Материалы и методы. В исследование было включено 73 пациента с генетически подтвержденным диагнозом ВАО вследствие дефицита C1-ингибитора, из них у 63 пациентов (37 женщин) уже была манифестация заболевания (тип I, n=48; тип II, n=15). Детектирование полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A выполняли секвенированием по Сэнгеру. Полученные результаты подвергали статистическому анализу для поиска закономерностей между наличием T- и/или G-аллели на возраст дебюта и степень тяжести заболевания.

Результаты. Среднее значение возраста пациентов на момент дебюта заболевания составило 12,1 года (минимум 1, максимум 43), медиана степени тяжести составила 6 из 10. Среди пациентов с ВАО в Республике Беларусь медиана отсрочки манифестации заболевания составила

5 лет при наличии у пациента Т-аллели (гомозиготное и гетерозиготное) ($p=0,027$). Не было выявлено статистически значимых закономерностей между возрастом дебюта заболевания и наличием у пациента G-аллели. Также не было выявлено закономерных различий между наличием как Т-аллели, так и G-аллели и тяжестью течения заболевания. Без достижения $p<0,05$ было выявлено, что медиана отсрочки заболевания у пациентов с двумя полиморфизмами равнялась 8,5 года, по сравнению с пациентами без отличий в референсных последовательностях в исследуемых регионах ($p=0,12$).

Выводы. Полученные в ходе исследования данные демонстрируют, что ВАО представляет собой более расширенную генетическую обусловленность, чем просто зависимость от мутации в гене SERPING1. Функциональные изменения в генах, участвующих в метаболизме брадикинина и кодирующих белки, отличные от C1-ингибитора, могут влиять на клинический фенотип и, возможно, вносить вклад в патогенез C1-INH-HAE.

Ключевые слова: врожденный ангионевротический отек, наследственный ангионевротический отек, ангионевротический отек, C1-ингибитор, функциональный полиморфизм F12-46C/T, функциональный полиморфизм KLKB1-428G/A, Беларусь.

Abstract

Introduction. Hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency (C1-INH-HAE) is a rare autosomal dominant disease characterized by episodic local swelling involving subcutaneous or submucous tissue in different parts of the body, including limbs, face, and throat. The disease can be potentially life-threatening when swelling obstructs the airway.

Purpose. To study the contribution of the functional polymorphisms F12-46C/T and KLKB1-428G/A to the clinical phenotype of C1-INH-HAE in a cohort of patients from the Republic of Belarus.

Materials and methods. The study included 73 patients; 63 patients (37 women) of them had a manifestation of the disease (type I, $n=48$; type II, $n=15$). The detection of polymorphisms F12-46C/T and KLKB1-428G/A was performed with Sanger sequencing. The statistical analysis was conducted to search for the patterns between the presence of the T and/or G alleles and the age of onset and severity of the disease.

Results. We examined 73 C1-INH-HAE patients for the F12-46C/T and KLKB1-428G/A. In 63 patients with clinical manifestation of the disease, the median age of disease onset was 12.1 years (min 1, max 43), and the median severity was 6 out of 10. The presence of the T allele (homozygous and heterozygous) was significantly associated with a delay in disease onset by 5 years, but we didn't find such association with the presence of the G allele. Also, we didn't find any association with the presence of the G or T allele with the clinical severity score. Without statistically significant evidence, patients carrying both polymorphisms exhibited an 8.5-year delay in disease onset, if compared to the carriers of the corresponding wild types ($p=0.12$).

Conclusions. These findings demonstrate that C1-INH-HAE represents a much more extended genetic dependence than just because of mutations in the SERPING1 gene, since functional alterations in the genes encoding proteins other than the C1 inhibitor and involved in bradykinin metabolism can affect the clinical phenotype and possibly contribute to the pathogenesis of C1-INH-HAE.

Keywords: hereditary angioedema, C1 inhibitor, functional polymorphism F12-46C/T, functional polymorphism KLKB1-428G/A, Belarus.

■ ВВЕДЕНИЕ

Ангионевротический отек – это состояние, при котором происходит выход жидкости из сосудистого русла в мягкие ткани (подслизистые

ткани, подкожно-жировую клетчатку) [1] из-за временного повышения проницаемости сосудистой стенки, вызванного высвобождением вазоактивных медиаторов и локального накопления воспалительных соединений.

Врожденный (наследственный) ангионевротический отек (BAO) – это потенциально опасное для жизни генетическое заболевание, которое в 99% случаев вызывается функциональным или количественным дефицитом C1-ингибитора. Медиатором BAO является брадикинин, а дефицит C1-ингибитора у пациентов с BAO может приводить к неконтролируемому высвобождению брадикинина. Брадикинин активирует брадикинин B2 рецептор, вызывая расширение сосудов, повышение проницаемости сосудов и выхода плазмы во внеклеточное пространство, приводящие к образованию отека, который, как правило, продолжается в течение нескольких суток [2]. Произведенный брадикинин активен только в течение короткого времени, однако взаимодействия брадикинина и брадикинин B2 рецептора могут вызывать экспрессию рецептора брадикинина B1 [3], который, в отличие от рецептора брадикинина B2, медленно и частично десенсибилизируется после связывания с его агонистом, это и может объяснить достаточно длительную продолжительность отеков [4]. BAO вследствие дефицита C1-ингибитора (C1-INH-HAE) возникает по причине генетических нарушений в гене, кодирующем C1-ингибитор (SERPING1, OMIM #606860), которые и приводят к количественному (тип I) или функциональному (тип II) дефициту C1-ингибитора [5]. Распространенность I и II типа C1-INH-HAE в мире оценивается между 1 : 10 000 и 1 : 50 000, без расовых и половых различий [6–8].

Впервые C1-INH-HAE может развиваться внезапно и в любом возрасте. Однако дебют заболевания обычно возникает в детстве, в возрасте 4–11 лет [9]. Клиническая манифестация симптомов C1-INH-HAE характеризуется большой межсемейной и внутрисемейной гетерогенностью, с клиническим диапазоном, варьирующим от бессимптомных случаев до пациентов, страдающих от еженедельных тяжелых и угрожающих жизни приступов [10, 11], и не коррелирует с уровнем C1-ингибитора в плазме крови [12], а также уровнем экспрессии C1-ингибитора [13]. Возраст дебюта заболевания, тяжесть и частота приступов, триггеры и локализация отеков различаются у пациентов с C1-INH-HAE независимо от генетического нарушения в гене SERPING1 [10, 14, 15]. Факторы, влияющие на неоднородность клинического проявления C1-INH-HAE, представляют собой одну из самых давно известных, но до сих пор плохо изученных особенностей.

Были продемонстрированы убедительные доказательства того, что носительство полиморфизма F12-46C/T (rs1801020) независимо связано с менее тяжелым клиническим фенотипом C1-INH-HAE [16]. Этот факт можно объяснить влиянием полиморфизма на синтез фактора свертывания крови FXII. Полиморфизм F12-46C/T расположен в промоторной области гена FXII, а изменение нуклеотида С на нуклеотид Т приведет к формированию нового иницирующего кодона (ATG) для транскрипции мРНК, что в свою очередь приведет к сдвигу рамки считывания и формированию преждевременного стоп-кодона, в результате мРНК будет продуцировать усеченный белок. Таким образом, Т-аллель разрушает

консенсусную последовательность Козак и препятствует правильному распознаванию сайта инициации трансляции [17, 18]. Однако, несмотря на то, что полиморфизм F12-46C/T приводит к снижению транскрипции FXII, а также к снижению антигенного уровня и активности FXII в плазме, его возможные последствия для продукции брадикинина еще не доказаны [17].

Кроме вклада полиморфизма F12-46C/T в фенотип заболевания C1-INH-НАЕ в мировой практике также проводятся исследования вклада функционального полиморфизма с. 428G/A (rs3733402) в гене KLKB1, кодирующего белок плазменного калликреина. Плазменный калликреин является неотъемлемой частью пути контактной активации на эндотелиальных клетках сосудов и в первую очередь ингибируется C1-ингибитором. Дефицит C1-ингибитора приводит к неконтролируемой генерации плазменного калликреина и к последующему протеолизу высокомолекулярного кининогена, который, в свою очередь, и приводит к чрезмерному синтезу брадикинина [19–21].

Большинство известных полиморфизмов гена KLKB1 расположены в некодирующих регионах. Однако полиморфизм с. 428G/A расположен в кодирующей области пятого экзона и приводит к изменению аминокислоты аспарагин (Asn) в аминокислоту серин (Ser) в 124-м положении по белку (p.Asn124Ser) [22, 23], это положение соответствует домену Apple 2 тяжелой цепи белка плазменного калликреина. Уже опубликованы убедительные доказательства того, что полиморфизм KLKB1-428G/A связан с нарушениями в ферментативном каскаде и приводит к уменьшению образования активного ренина [24]. Кроме того, наличие этого полиморфизма приводит к более крепкой связи с препроэндотелином-1 (один из антигенных белков эндотелия сосудов) [25], а также коррелирует с меньшим риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и артериальной гипертензии [24, 26]. В 2017 г. группе ученых из Греции, Германии, Румынии и Венгрии удалось найти корреляцию между присутствием полиморфизма KLKB1-428G/A и более поздним дебютом заболевания и меньшей необходимостью в профилактическом лечении среди 249 пациентов с C1-INH-НАЕ [27]. Однако в 2018 г. при исследовании 78 пациентов из Юго-Восточной Европы (из Македонии, Словении, Сербии и Хорватии) такой корреляции не было выявлено [28].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить вклад функциональных полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A в клинический фенотип врожденного (наследственного) ангионевротического отека вследствие дефицита C1-ингибитора в когорте пациентов Республики Беларусь.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 73 пациента из 28 неродственных семей с генетически подтвержденным ВАО, который был диагностирован в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» с 2010 по 2020 г. Информированное согласие было получено у всех пациентов и/или их официальных опекунов.

Таблица 1**Последовательности праймеров для амплификации необходимых регионов ДНК**

Название праймера	Последовательность (5'→3')	Температура отжига	Длина в нуклеотидах (п. о.)	Длина ПЦР-продукта (п. о.)
F12_1_F	CAAGACCTTTGGCCAGTCCT	59.89	20	310
F12_1_R	GCCCTTGATCCACCCAGTC	60.11	20	
KLKB1_5_F	ACCCAATTTCAAAGCTAGTGCT	58.50	20	289
KLKB1_5_R	TCCTGGAGGCACCAATACAA	58.63	20	

Примечания: F – прямой праймер; R – обратный праймер.

Table 1**Primers used to sequence the required DNA regions**

Primer	Sequence (5'→3')	Annealing temperature	Primer length (bp)	PCR product length (bp)
F12_1_F	CAAGACCTTTGGCCAGTCCT	59.89	20	310
F12_1_R	GCCCTTGATCCACCCAGTC	60.11	20	
KLKB1_5_F	ACCCAATTTCAAAGCTAGTGCT	58.50	20	289
KLKB1_5_R	TCCTGGAGGCACCAATACAA	58.63	20	

Notes: F – forward primer; R – reverse primer.

Подбор праймеров для амплификации необходимых областей геномной ДНК

Дизайн праймеров осуществляли с использованием программного обеспечения Primer-BLAST и учитывали следующие требования: длина праймеров – 18–22 нуклеотида, температура отжига – 55–65 °С, содержание GC-пар – не более 60%. Отсутствие на 3'-конце стабильных петель, неспособность формировать праймер-димеры со вторым праймером, отсутствие кластеров повторяющихся нуклеотидов, отсутствие альтернативных сайтов отжига прямого и обратного праймеров на ДНК человека в пределах одной хромосомы проверяли с помощью программы Oligo Calc (Oligonucleotide Properties Calculator) и гетеродимерного анализа в программе OligoAnalyzer. Подобранные праймеры представлены в табл. 1.

Детектирование функциональных полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови, используя метод фенол-хлороформной экстракции. С выделенной ДНК проводили серию ПЦР на программированном термоциклере Verity, Life Technologies (США). Секвенирование выполнялось на капиллярном генетическом анализаторе 3500, Applied Biosystems (США). Полученные по результатам секвенирования нуклеотидные последовательности пациента сравнивались с референсными [29]. Анализ полученных данных выполняли при помощи специализированного программного обеспечения Sequencing Analysis 5.2 и BioEdit.

Статистический анализ

Анализ данных проводился с помощью программы StatSoft 8.0 и использования аналогового арифметического преобразования результатов.

Оценка тяжести атак определялась согласно критериям BYGUM [30]. Данные были взяты из анкет, заполненных пациентами и/или из медицинских карт.

Был определен коэффициент корреляции для всех тестов. Непараметрический тест Манна – Уитни был использован для сравнения наличия T- и/или G-аллели на возраст дебюта и степень тяжести заболевания. Значения считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование было включено 73 пациента с генетически подтвержденным диагнозом ВАО вследствие дефицита C1-ингибитора, из которых у 63 пациентов (37 женщин) уже была манифестация заболевания (тип I, $n=48$; тип II, $n=15$). Среднее значение возраста пациентов на момент дебюта заболевания составило 12,1 года (минимум 1, максимум 43). Учитывая, что уровни фактора XII (FXII) могут влиять на продукцию брадикинина, и то, что калликреин плазмы играет центральную роль в синтезе брадикинина, мы исследовали вклад функциональных полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A в фенотип заболевания, затем исследовали и их комбинированное влияние. При детектировании полиморфизма F12-46C/T гетерозиготное наличие T-аллели было выявлено у 25 пациентов, а гомозиготное – у 6, у 32 пациентов присутствия T-аллели не было выявлено. Наличие T-аллели (гомозиготное и гетерозиготное) у пациентов значимо коррелировало с более поздним дебютом заболевания (медиана 5, среднее значение \pm SD: $14,2 \pm 8,5$ в сравнении $9,8 \pm 7,7$ года, $p=0,027$, тест Манна – Уитни) (рис. 1).

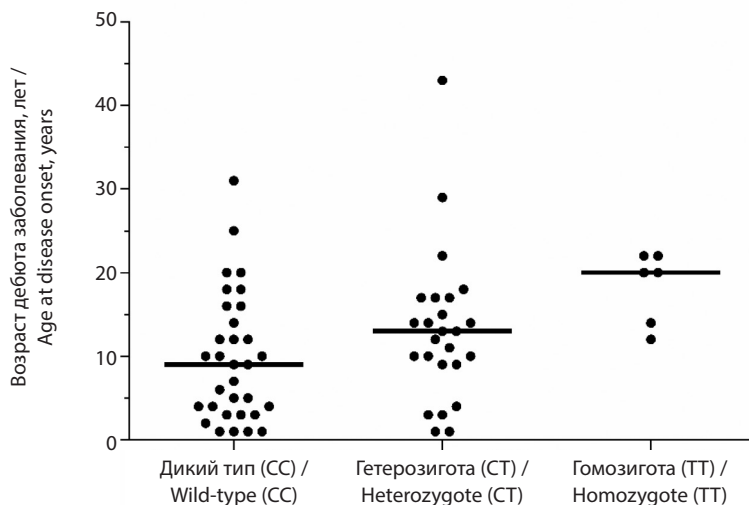


Рис. 1. Графическое изображение того, как наличие T-аллели в полиморфизме F12-46C/T и двух аллелей, продуцирующих референсный нуклеотид C, влияет на возраст дебюта заболевания

Fig. 1. Differences in the disease onset due to the presence of the T allele in the F12-46C/T polymorphism and two alleles producing the reference nucleotide C

При детектировании полиморфизма KLKB1-428G/A гетерозиготное наличие G-аллели было выявлено у 29 пациентов, а гомозиготное – у 12, у 22 пациентов присутствия G-аллели не было выявлено. Нами не было выявлено статистически значимых отличий с более поздним дебютом заболевания при сравнении наличия G-аллели (гомозиготное и гетерозиготное) среди когорты белорусских пациентов и отсутствия G-аллели (медиана 2,5 года, среднее значение \pm SD: $11,7 \pm 8,8$ в сравнении $12,4 \pm 7,6$ года, $p=0,5682$, тест Манна – Уитни) (рис. 2).

Мы сопоставили полученные данные при детектировании двух полиморфизмов. Была выявлена корреляция с более поздним дебютом заболевания, однако без статистической достоверности. У пациентов с двумя полиморфизмами задержка в манифестации заболевания составила 6,02 года ($n=16$, медиана 8,5 года, $p=0,12$, тест Манна – Уитни), а при наличии только полиморфизма F12-46C/T задержка равнялась 6,61 года ($n=15$, медиана 9, $p=0,08$, тест Манна – Уитни), только полиморфизма KLKB1-428G/A – 2,42 года ($n=25$, медиана 5, $p=0,55$, тест Манна – Уитни) по сравнению с пациентами без отличий в референсных последовательностях в исследуемых областях (рис. 3). Полученные данные указывают на необходимость продолжения исследования влияния функционального полиморфизма KLKB1-428G/A среди пациентов с ВАО в разных популяциях, прежде чем использовать данный полиморфизм как универсальный биомаркер предсказания течения заболевания.

Чтобы определить наличие или отсутствие влияния T- и/или G-аллели на тяжесть течения заболевания, мы выбрали для сравнения критерий оценки степени тяжести по BYGUM. Среди всех пациентов

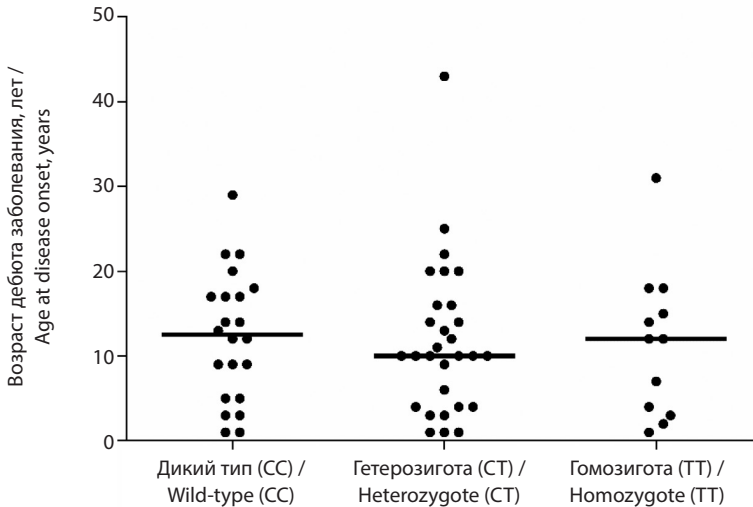


Рис. 2. Графическое изображение того, как наличие G-аллели в полиморфизме KLKB1-428G/A и двух аллелей, продуцирующих референсный нуклеотид А, влияет на возраст дебюта заболевания

Fig. 2. Differences in the disease onset due to the presence of the G allele in the KLKB1-428G/A polymorphism and two alleles producing the reference nucleotide A

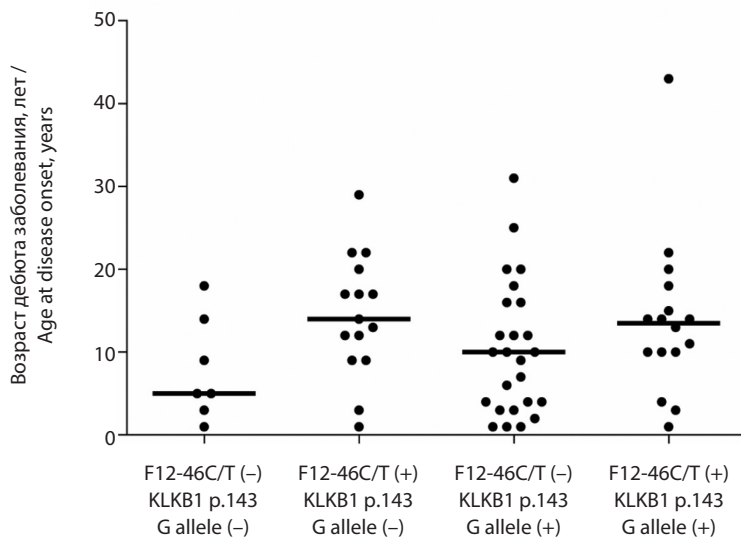


Рис. 3. Различия в возрасте дебюта заболевания между группами пациентов без полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A, носителями одного из полиморфизмов и носителями обоих полиморфизмов

Fig. 3. Differences in the age of disease onset between patients not carrying F12-46C/T and KLKB1-428G/A, carriers of one of them, and carriers of both polymorphisms

(n=63) медиана степени тяжести составила 6 из 10. Для группы пациентов, у которых было выявлено наличие Т-аллели (гомозиготное и гетерозиготное), медиана степени тяжести заболевания составила 5, а для группы пациентов, у которых в ходе генетического исследования не было выявлено Т-аллели, – 6 (среднее значение \pm SD: $5,3 \pm 2,7$ при наличии Т-аллели, $6,0 \pm 2,4$ – без Т-аллели). Разница между медианами тяжести заболевания пациентов в группе без наличия Т-аллели и в группе с наличием Т-аллели составила 1, однако $p < 0,05$ достигнуто не было ($p = 0,25$, тест Манна – Уитни). Мы также проверили, влияет ли наличие G-аллели (гомозиготное и гетерозиготное) на степень тяжести заболевания, и не выявили статистически значимых отличий ($p = 0,77$, тест Манна – Уитни). Разбив пациентов на четыре группы, как и в исследовании о степени влияния полиморфизмов и их комбинированном влиянии на дебют заболевания, мы получили, что медиана тяжести заболевания в группе без отличий в референсных последовательностях в исследуемых областях составила 7, в группе пациентов с присутствием только полиморфизма F12-46C/T – 5, в группе пациентов с присутствием только полиморфизма KLKB1-428G/A – 6, а в группе пациентов с присутствием и G-, и Т-аллели – 5. Разница между медианами тяжести заболевания пациентов в группе без полиморфизмов и в группе с двумя полиморфизмами составила 2, однако $p < 0,05$ достигнуто не было, $p = 0,09$, тест Манна – Уитни (рис. 4).

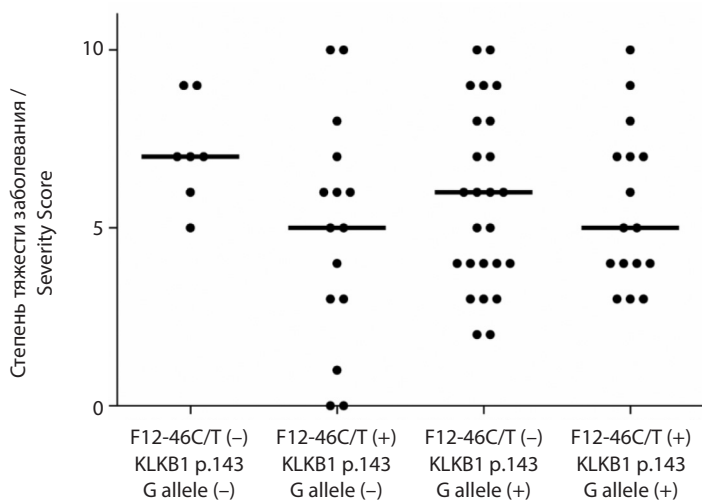


Рис. 4. Различия в тяжести течения заболевания между группами пациентов без полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A, носителями одного из полиморфизмов и носителями обоих полиморфизмов

Fig. 4. Differences in severity score between patients not carrying F12-46C/T and KLKB1-428G/A, carriers of one of them, and carriers of both polymorphisms

По полученным результатам в ходе исследования выявлено, что присутствие у пациента полиморфизма F12-46C/T статистически достоверно связано с отсрочкой дебюта заболевания на 4,4 года по сравнению с пациентами без данного полиморфизма. Полиморфизм KLKB1-428G/A в когорте пациентов Республики Беларусь не оказывает подобного влияния, однако, усиливает действие полиморфизма F12-46C/T. В ходе нашего исследования нами не было выявлено статистически значимых данных о влиянии полиморфизмов F12-46C/T и KLKB1-428G/A как поодиночке, так и в комбинации, на степень тяжести заболевания у пациентов с ВАО.

Полученные нами результаты подтверждают предварительные исследования [16, 27, 28, 31] и предоставляют убедительные доказательства того, что носительство полиморфизма F12-46C/T независимо связано с более поздней манифестацией C1-INH-НАЕ. Как и в исследовании V. Grivčeva-Papovska et al. [28], мы не нашли зависимости между наличием полиморфизмов F12-46C/T и/или KLKB1-428G/A и степенью тяжести заболевания, как это было показано в более ранних исследованиях [27, 31], в которых были найдены ассоциации, что более раннее проявление симптомов обратно коррелирует с последующим течением заболевания и в конечном итоге необходимостью в длительной профилактике.

В ходе выполнения молекулярно-генеалогического анализа кровным родственникам с генетически подтвержденным ВАО нами было выявлено 13 пациентов с ВАО на доклинической стадии. Мы также

выполнили молекулярно-генетический анализ регионов ДНК, соответствующих полиморфизмам F12-46C/T и KLKB1-428G/A, полученные результаты представлены в табл. 2. Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 7,7 года (среднее значение \pm SD: 8,14 \pm 5,8; минимум 3 месяца, максимум 16 лет). У троих пациентов манифестация БАО произошла в течение года после постановки диагноза. Возраст пациентов на момент первых атак составил 7, 12 и 15 лет.

Судя по данным, приведенным в табл. 2, среди трех пациентов с дебютом заболевания манифестация позже всех произошла у пациента ID 060 (в возрасте 15 лет), у которого была выявлена T-аллель в гетерозиготном состоянии. Среди пациентов, которым БАО был диагностирован на доклинической стадии, у 10 на момент написания статьи

Таблица 2
Клинические и генетические данные пациентов, которым БАО был диагностирован на доклинической стадии

ID пациента	F12-46C/T	KLKB1-428G/A	Возраст дебюта (лет)	Полных лет на момент написания статьи
030	Дикий тип (CC)	Гетерозигота (GA)	7	16
028	Дикий тип (CC)	Гомозигота (GG)	12	15
060	Гетерозигота (CT)	Гомозигота (GG)	15	15
004	Дикий тип (CC)	Гетерозигота (GA)	Не было	10
015	Дикий тип (CC)	Гомозигота (GG)	Не было	6
026	Гомозигота (TT)	Дикий тип (AA)	Не было	15
036	Гетерозигота (CT)	Гетерозигота (GA)	Не было	6
038	Гетерозигота (CT)	Дикий тип (AA)	Не было	3
044	Гетерозигота (CT)	Гетерозигота (GA)	Не было	18
059	Дикий тип (CC)	Гетерозигота (GA)	Не было	4
065	Гетерозигота (CT)	Гетерозигота (GA)	Не было	16
068	Гетерозигота (CT)	Гетерозигота (GA)	Не было	1
071	Гетерозигота (CT)	Гетерозигота (GA)	Не было	8

Table 2
Clinical and genetic data of patients with HAE diagnosed before their first attack

Patient ID	F12-46C/T	KLKB1-428G/A	Age of the disease onset (years)	Full years (Sept. 2020)
030	Wild-type (CC)	Heterozygote (GA)	7	16
028	Wild-type (CC)	Homozygote (GG)	12	15
060	Heterozygote (CT)	Homozygote (GG)	15	15
004	Wild-type (CC)	Heterozygote (GA)	Didn't have	10
015	Wild-type (CC)	Homozygote (GG)	Didn't have	6
026	Homozygote (TT)	Wild-type (AA)	Didn't have	15
036	Heterozygote (CT)	Heterozygote (GA)	Didn't have	6
038	Heterozygote (CT)	Wild-type (AA)	Didn't have	3
044	Heterozygote (CT)	Heterozygote (GA)	Didn't have	18
059	Wild-type (CC)	Heterozygote (GA)	Didn't have	4
065	Heterozygote (CT)	Heterozygote (GA)	Didn't have	16
068	Heterozygote (CT)	Heterozygote (GA)	Didn't have	1
071	Heterozygote (CT)	Heterozygote (GA)	Didn't have	8

манифестации заболевания еще не произошло. Медиана их возраста составила 7,7 года ($n=10$, среднее значение \pm SD: $8,7\pm 5,9$; минимум 1 год, максимум 18 лет). Поскольку ранее в исследовании мы получили статистически достоверные данные того, что отсутствие Т-аллели у пациентов в Республике Беларусь значимо коррелировало с более ранним дебютом заболевания, для которых средний возраст манифестации заболевания был равен 9,8 года, мы решили искать подтверждение этого утверждения у бессимптомных пациентов, достигших возраста 10 лет. Как видно из табл. 2, четыре бессимптомных пациента из нашего исследования на момент написания статьи достигли возраста 10 лет. У пациента ID 004 не было выявлено Т-аллели, а его возраст на момент выполнения исследования составил 10 лет, что может свидетельствовать о возможно скорой манифестации заболевания. У пациентов ID 026, ID 044 и ID 065 была выявлена Т-аллель в гомозиготе или гетерозиготе, и на момент исследования их возраст равнялся 15, 18 и 16 лет соответственно. Это еще раз подтверждает, что наличие Т-аллели в полиморфизме F12-46C/T коррелирует с более поздним дебютом ВАО вследствие дефицита С1-ингибитора.

■ ВЫВОДЫ

1. Присутствие Т-аллели (гомозиготное и гетерозиготное) полиморфизма F12-46C/T у пациентов с врожденным ангионевротическим отеком в Республике Беларусь статистически достоверно связано с отсрочкой дебюта заболевания на 4,4 года по сравнению с пациентами без данного полиморфизма.
2. В когорте пациентов Республики Беларусь с врожденным ангионевротическим отеком не было выявлено статистически значимых отличий между наличием G-аллели полиморфизма KLKB1-428G/A и более поздним дебютом заболевания.
3. Не было выявлено статистически значимых отличий между наличием как Т-аллели, так и G-аллели и тяжестью течения заболевания.
4. Полученные данные указывают на необходимость продолжения исследования влияния функционального полиморфизма KLKB1-428G/A среди пациентов с ВАО в разных популяциях, прежде чем использовать данный полиморфизм как универсальный биомаркер предсказания течения заболевания.
5. Определение наличия функционального полиморфизма F12-46C/T с практической точки зрения может применяться для предсказания возраста начала заболевания у пациента с выявленной семейной мутацией на доклинической стадии.

Благодарность

Работа выполнена при финансовой поддержке ГНТП «Фундаментальные и прикладные науки – медицине, 2016–2020 годы» (подпрограмма «Диагностика и терапия заболеваний») (№ госрегистрации 20190517).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Piñero-Saavedra M., Ganchez-Quevedo T.J. (2017) The genetics of hereditary angioedema: a review. *Rare Dis. Res. Treat.*, vol. 2, no 4, pp. 14–19.
2. Kaplan A.P., Joseph K. (2010) Kinin formation in C1 inhibitor deficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 125, pp. 1411–1412.
3. Zuraw B.L., Christiansen S.C. (2016) HAE pathophysiology and underlying mechanisms. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, vol. 51, no 2, pp. 216–229.
4. Bossi F. (2009) Novel pathogenic mechanism and therapeutic approaches to angioedema associated with C1 inhibitor deficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 124, no 6, pp. 1303–1310.
5. Rosen F.S. (1965) Hereditary angioneurotic edema: two genetic variants. *Science*, vol. 148, pp. 957–958.
6. Nzeako U.C., Frigas E., Tremaine W.J. (2001) Hereditary angioedema: A broad review for clinicians. *Arch Intern Med.*, vol. 161, pp. 2417–2429.
7. Frank M.M. (2000) *Urticaria and angioedema. Cecil's Textbook of Medicine 21st edition*. Philadelphia, pp. 1440–1445.
8. Talavera A. (1995) Hereditary angioedema: an infrequent cause of abdominal pain with ascites. *Am J Gastroenterol.*, vol. 90, iss. 3, pp. 471–474.
9. Gompels M.M. (2005) C1 inhibitor deficiency: consensus document. *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 139, pp. 379–394.
10. Zuraw B.L. (2008) Clinical practice. Hereditary angioedema. *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no 10, pp. 1027–1036.
11. Longhurst H., Cicardi M. (2012) Hereditary angio-edema. *Lancet*, vol. 379, pp. 474–481.
12. Papadopoulou-Alataki E. (2010) Hereditary angioedema: study of families, molecular diagnosis and treatment. *Abstr. XIVth Meeting of the European Society for Immunodeficiencies*, Istanbul (Turkey), p. 136.
13. Gur'yanova I., Korosteleva L., Polyakova E., Pugachyova V., Ermilova T., Skopovec E., Lyubushkin A., Zharankova YU., Aleshkevich S., Belevcev M. (2019) Issledovanie komponentov sistemy komplekta v differencial'noj diagnostike vrozhdyonnogo (nasledstvennogo) angionevroticheskogo otyoka [Study of the components of the complement system in differential diagnostics of hereditary angioedema]. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa*, vol. 8, no 4, pp. 553–564.
14. Bork K., Davis-Lorton M. (2013) Overview of hereditary angioedema caused by C1-inhibitor deficiency: assessment and clinical management. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.*, vol. 45, pp. 7–16.
15. Gur'yanova I. (2020) Klinicheskaya epidemiologiya i molekulyarnaya genealogiya vrozhdyonnogo angionevroticheskogo otyoka [Clinical epidemiology and molecular genealogy of hereditary angioedema]. *Zdravoohranenie*, 1, pp. 18–23.
16. Bors A. (2013) Less severe clinical manifestations in patients with hereditary angioedema with missense C1INH gene mutations. *J Allergy Clin Immunol.*, vol. 131, pp. 1708–1711.
17. Kanaji T. (1998) A common genetic polymorphism (46 C to T substitution) in the 50-untranslated region of the coagulation factor XII gene is associated with low translation efficiency and decrease in plasma factor XII level. *Blood*, vol. 91, pp. 2010–2014.
18. Lammle B. (1991) Thromboembolism and bleeding tendency in congenital factor XII deficiency: a study of 74 subjects from 14 Swiss families. *Thromb Haemost.*, vol. 65, pp. 117–121.
19. Hofman Z.L. (2016) Angioedema attacks in patients with hereditary angioedema: local manifestations of a systemic activation process. *J Allergy Clin Immunol.*, vol. 138, pp. 359–366.
20. Defendi F. (2013) Enzymatic assays for the diagnosis of bradykinin-dependent angioedema. *PLoS One*, vol. 8, iss. 8, pp. 1–7.
21. Baroso R. (2016) Kininogen cleavage assay: diagnostic assistance for kinin-mediated angioedema conditions. *PLoS One*, vol. 11, pp. 1–16.
22. Katsuda I. (2007) A new type of plasma prekallikrein deficiency associated with homozygosity for Gly104Arg and Asn124Ser in apple domain 2 of the heavy-chain region. *Eur J Haematol.*, vol. 79, pp. 59–68.
23. Yu H. (2000) Genomic structure of the human plasma prekallikrein gene, identification of allelic variants, and analysis in end-stage renal disease. *Genomics*, vol. 69, pp. 225–234.
24. Biswas N. (2016) Polymorphisms at the F12 and KLKB1 loci have significant trait association with activation of the renin-angiotensin system. *BMC Med Genet.*, vol. 17, 11 p.
25. Verweij N. (2013) Genomewide association study on plasma levels of midregional-proadrenomedullin and C-terminal-pro-endothelin-1. *Hypertension*, vol. 61, pp. 602–608.
26. Gittleman H.R. (2016) A cross-sectional study of KLKB1 and PRCP polymorphisms in patient samples with cardiovascular disease. *Front Med.*, vol. 3, 17 p.
27. Gianni P. (2017) Genetic Determinants of C1 Inhibitor Deficiency Angioedema Age of Onset. *Int Arch Allergy Immunology*, vol. 174, pp. 200–204.
28. Grivčeva-Panovska V. (2018) Hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency in Macedonia: clinical characteristics, novel SERPING1 mutations and genetic factors modifying the clinical phenotype. *Annals of Medicine*, vol. 50, pp. 269–276.
29. *Ensembl genome browser 95* [electronic resource]. Ensembl release 97. Available at: <http://www.ensembl.org/index.html> (accessed April 24, 2020).
30. Bygum A. (2011) Mutational spectrum and phenotypes in Danish families with hereditary angioedema because of C1 inhibitor deficiency. *Allergy*, vol. 66, pp. 76–84.
31. Speletas M. (2015) F12-46C/T polymorphism as modifier of the clinical phenotype of hereditary angioedema. *Allergy*, vol. 70, pp. 1661–1664.

Поступила/Received: 10.09.2020

Контакты/Contacts: guryanovairina85@gmail.com