

**КОМПЛЕКСНЫЙ *IN SILICO* АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ
ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6* У ПАЦИЕНТОВ С НАО I
ТИПА**

Седых А. В. ¹,
Останкова Ю. В. ¹,
Савин Т. В. ^{1, 2},
Петрусенко Ю. С. ^{3, 4},
Тотолян А. А. ^{1, 2}

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Санкт-Петербург, Россия)

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ (Санкт-Петербург, Россия)

³ ООО «Биотек кампус» (Москва, Россия)

⁴ Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (Москва, Россия).

**COMPREHENSIVE *IN SILICO* ANALYSIS OF POLYMORPHIC
VARIANTS IN THE *KNG1*, *MYOF*, AND *HS3ST6* GENES IN PATIENTS
WITH HAE TYPE I**

Sedykh A. V. ^a,
Ostankova Yu. V. ^a,
Savin T. V. ^{a, b},
Petrusenko Yu. S. ^{c, d},
Totolian A. A. ^{a, b}

^a Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, Saint Petersburg, Russia

^c Biotech Campus LLC, Moscow, Russia

^d Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Резюме

Наследственный ангиоотек (НАО) представляет собой редкое наследственное заболевание, проявляющееся периодическими эпизодами отёка кожи, слизистых оболочек и внутренних органов. Развитие заболевания связано с нарушением регуляции калликреин-кининовой системы, что приводит к избыточной продукции брадикинина. Наиболее распространённой формой является НАО I типа, возникающий вследствие количественного дефицита C1-ингибитора, обусловленного мутациями в гене *SERPING1*. Генетический анализ в большинстве случаев ограничивается выявлением патогенетически значимых вариантов в *SERPING1*. При этом потенциальный вклад дополнительных генетических изменений в других генах, участвующих в регуляции калликреин-кининовой системы, игнорируется и остаётся недостаточно изученным.

Целью нашей работы было оценить при помощи биоинформатического метода возможную патогенетическую значимость редких полиморфных вариантов в генах *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6* у пациентов с НАО I типа.

Материалом служила цельная кровь 24 пациентов с симптомами НАО, полученная вне обострения. Диагноз устанавливался на основании клинических, лабораторных и генетических данных. Было проведено полногеномное секвенирование с последующим анализом дополнительных генетических вариантов в генах, участвующих в регуляции калликреин-кининового каскада, включая варианты с неопределённым клиническим значением. Для прогноза клинической значимости найденных полиморфных вариантов на белки KNG1, MYOF, HS3ST6 были использованы различные веб-ресурсы, основанные на разных алгоритмах (ConSurf, PrimateAI, CADD, PolyPhen-2, SNPs&GO, PhD-SNP, MutationTaster2021, PredictSNP, MuPro, MutPred2, Michelangelo-VENUS и I-Mutant2.0, MolProbity). Проверку структур проводили в программе ChimeraX.

Результаты. При полногеномном секвенировании у 4 неродственных пациентов помимо патогенетически значимой мутации в гене *SERPING1* были найдены NM_001102416.3:c.758-7C>G в гене *KNG1*, NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6* и два полиморфных варианта NM_013451.4:c.3499T>C и NM_013451.4:c.6058G>A в гене *MYOF* с неизвестным клиническим значением. *In silico* анализ показал, что патогенетически наиболее значимый потенциал имеет полиморфный вариант NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6*. При этом результаты различных прогностических алгоритмов для ряда других исследуемых генетических вариантов оказались противоречивыми.

Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли дополнительных полиморфных вариантов в генах, участвующих в регуляции калликреин-кининового каскада, в модификации клинических проявлений наследственного ангиоотёка. Однако для подтверждения их патогенетического значения необходимы дальнейшие исследования, включая

анализ семейной сегрегации и функциональную валидацию выявленных вариантов.

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, наследственный ангиоотек, биоинформатический анализ, *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6*, полиморфные варианты.

Abstract

Hereditary angioedema (HAE) is a rare inherited disorder characterized by recurrent episodes of edema involving the skin, mucous membranes, and internal organs. It results from dysregulation of the kallikrein–kinin system and excessive bradykinin production. The most common form, HAE type I, is caused by quantitative C1 inhibitor deficiency due to pathogenic variants in the *SERPING1* gene. Although molecular diagnosis mainly focuses on *SERPING1*, the contribution of additional variants in other genes regulating the kallikrein–kinin pathway remains insufficiently investigated.

Objective. To evaluate the potential pathogenic significance of rare variants in the *KNG1*, *MYOF*, and *HS3ST6* genes in patients with HAE type I using bioinformatic approaches.

Methods. Whole blood samples collected outside acute attacks from 24 patients with clinically confirmed HAE were analyzed. Diagnosis was established using clinical, laboratory, and genetic findings. Whole-genome sequencing was performed to identify additional variants, including variants of uncertain significance, in genes associated with regulation of the kallikrein–kinin cascade. The functional impact of variants detected in *KNG1*, *MYOF*, and *HS3ST6* was assessed using multiple computational prediction tools (ConSurf, PrimateAI, CADD, PolyPhen-2, SNPs&GO, PhD-SNP, MutationTaster2021, PredictSNP, MuPro, MutPred2, Michelangelo-VENUS, I-Mutant2.0, and MolProbity). Structural validation was performed in ChimeraX.

Results. Whole-genome sequencing identified four unrelated patients carrying additional variants alongside pathogenic *SERPING1* mutations: *KNG1* NM_001102416.3.758-7C>G, *HS3ST6* NM_001009606.4.542G>A, and *MYOF* NM_013451.4.3499T>C and NM_013451.4.6058G>A. All variants were classified as variants of uncertain significance. Among them, the *HS3ST6* variant NM_001009606.4.542G>A demonstrated the strongest evidence of potential pathogenicity based on in silico analyses, whereas predictions for the remaining variants were inconsistent across algorithms.

Conclusions. These findings support the hypothesis that rare variants in genes involved in regulation of the kallikrein–kinin system may contribute to the clinical variability of hereditary angioedema. Nevertheless, segregation studies and functional experiments are required to determine their clinical relevance.

Keywords: primary immunodeficiency, hereditary angioedema, bioinformatic analysis, *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6*, polymorphic variants.

1 Введение

Наследственный ангиоотек (НАО) – генетически детерминированное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, которое приводит к эпизодическим отекам лица, верхних дыхательных путей, конечностей, гениталий и желудочно-кишечного тракта [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Приступы НАО могут быть опасны для жизни, если отек развивается в области гортани, это может приводить к обструкции верхних дыхательных путей. Отеки могут сохраняться в течение нескольких часов или дней, исчезая спонтанно или после лечения. Заболевание встречается примерно у одного из 50 000 до 150 000 человек [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Триггерами эпизодов могут быть различные факторы, включая психологический стресс и гормональные нарушения. Дебют заболевания начинается чаще всего в первом или втором десятилетии жизни, однако возможны случаи позднего начала заболевания. Патогенез НАО связан с гиперактивацией вазоактивного медиатора – брадикинина и повышенной проницаемостью сосудистого эндотелия в различных тканях [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Повышенная сосудистая проницаемость при НАО тесно связана с медиаторами контактной системы, прежде всего калликреин-кининовым путем. Ключевым регулятором в этом каскаде, а также систем фибринолиза, коагуляции и системы комплемента выступает ингибитор C1-эстеразы (C1-INH, продукт гена *SERPING1*) [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Согласно клиническим рекомендациям НАО разделяют на несколько типов в зависимости от уровня и функциональной активности C1-ингибитора [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. На первый тип НАО с количественным дефицитом C1-ингибитора приходится 80-85% случаев всех пациентов [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. При втором типе НАО уровень C1-ингибитора остается в пределах нормы, но снижается его функциональная активность, что составляет около 10-15% всех случаев. Оба типа вызваны мутациями в гене *SERPING1*, который кодирует C1-ингибитор [0]. Генетические нарушения, затрагивающие активный центр белка, приводят к дисфункции C1-ингибитора, тогда как остальные патогенетически значимые варианты влияют на уровень C1-ингибитора. НАО с нормальным уровнем C1-ингибитора составляет меньше 5% всех случаев заболевания и связан с мутациями в генах *FXII*, *PLG*, *KNG1*, *HS3ST6*, *CPN1*, *ANGPT1*, *MYOF*, *DAB2IP* [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Однако именно НАО с нормальным уровнем C1-ингибитора чаще всего остается генетически неопределенным; его классифицируют как НАО-UNKNOWN (неизвестный статус мутации).

Мутации в генах *FXII*, *PLG*, *KNG1*, *HS3ST6*, *CPN1*, *ANGPT1*, *MYOF*, *DAB2IP* участвуют в патогенезе НАО посредством различных механизмов [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Варианты в генах *FXII*, *PLG*, *KNG1*, *HS3ST6*, *CPN1* ассоциированы с нарушением в регуляции брадикининового пути. Генетические нарушения в *ANGPT1*, *MYOF*, *DAB2IP* влияют на проницаемость сосудов через VEGF-зависимый путь, что указывает на

альтернативный механизм нарушения регуляции эндотелиальной функции [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Изменения в этих генах можно выявить только при помощи проведения методов генетического анализа, который позволяет находить новые и ранее не описанные варианты [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Несмотря на постоянные исследования, клиническая вариабельность среди пациентов с НАО остается в значительной степени нерешенной проблемой. Мутации в гене *SERPING1* детерминируют заболевание, но не определяют полностью вариабельность фенотипа. Начало дебюта, тяжесть, частота симптомов и терапия могут значительно различаться, не только у неродственных пациентов, но даже у членов одной семьи, имеющих одинаковую мутацию в гене *SERPING1*. Вариабельность клинического течения НАО может быть связана как с общим вкладом генов, участвующих в патогенезе, так и с наличием отдельных полиморфных вариантов, способных влиять на течение заболевания независимо от основного генетического дефекта [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

В настоящее время в рутинной практике здравоохранения многих стран генетическое тестирование ограничивается находками в гене *SERPING1*, поиск дополнительных вариантов не проводится или анализируются только достоверно известные патогенетически значимые мутации в генах, ассоциированных с НАО. Однако, если проводится расширенный генетический анализ, то дополнительным ограничением в диагностике может быть выявление полиморфных вариантов с неизвестным клиническим значением (VUS), для которых отсутствует четкая связь с клиническим фенотипом и функциональными последствиями [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Гетерогенность молекулярных механизмов заболевания, а также низкая пенетрантность у некоторых членов семьи может затруднять интерпретацию таких вариантов. В связи с этим постановка диагноза может быть отложена до накопления достаточного количества клинико-генетических данных, проведения функциональных исследований или получения результатов расширенного молекулярного анализа, что может занимать месяцы или годы [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

В нашей предыдущей работе было показано, что для первичной интерпретации вариантов можно использовать комплексный биоинформатический анализ в качестве дополнительного инструмента предварительной оценки патогенетического потенциала найденных вариантов [0]. Такой подход поможет отобрать наиболее перспективные варианты, требующие дальнейшего анализа и углубленного изучения. Это особенно важно для генетического консультирования и принятия клинических решений, поскольку корректная интерпретация результатов дает возможность формировать индивидуализированные стратегии лечения, а накопление таких данных способствует пониманию генетической архитектуры НАО.

Цель. Оценить при помощи биоинформатического метода возможную патогенетическую значимость редких полиморфных вариантов в генах *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6* у пациентов с НАО I типа.

2 Материалы и методы

Материалом служили образцы цельной крови, полученные от 24 пациентов с диагнозом НАО вне обострения. Диагноз установлен в соответствии с клинической картиной и анамнезом. По результатам клинико-лабораторного и генетического тестирования 17 пациентам из исследуемой выборки поставлен диагноз НАО I типа.

У четырёх пациентов с диагностированным НАО I типа, помимо мутаций в гене *SERPING1*, которые вызывают заболевание, были выявлены дополнительные изменения в генах, связанные с патогенезом заболевания и регуляцией калликреин-кининового каскада. В соответствии с действующими рекомендациями по интерпретации генетических вариантов данные замены отнесены к вариантам с неопределённым клиническим значением. Несмотря на то, что самостоятельная роль найденных полиморфных вариантов в развитии заболевания не доказана, такие генетические изменения могут рассматриваться как возможные факторы, влияющие на выраженность фенотипа, что обусловило их включение в дальнейший анализ.

Дизайн исследования был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» №17 от 25.09.2023. От каждого участника (или его официального представителя) было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Полногеномное секвенирование

Полногеномный анализ проводили на базе ООО «Биотек кампус» в рамках проекта Национальной генетической инициативы «100000+Я».

Геномную ДНК выделяли из 200 мкл цельной крови при помощи коммерческого набора ДНК MGIEasy Magnetic Beads (MGI, Китай) с использованием магнитных частиц в соответствии с протоколом производителя.

Для каждого образца геномной ДНК (1000 нг) создавали библиотеки геномной ДНК без стадии амплификации с использованием набора для подготовки геномной библиотеки MGIEasy Fast PCR-FREE FS DNA Library Prep Set V2.0 (MGI, Китай). Контроль и качество библиотек проводили при помощи системы на 4200 TapeStation и реагентов Agilent D1000 ScreenTape (Agilent, США). Секвенирование проводили на платформе DNBSEQ-T7 (MGI, Китай) в режиме парных прочтений длиной 150 п.н. Последовательности коротких прочтений картировали на референс генома человека hg38 с использованием программы BWA [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Коллинг вариантов (variant calling) осуществляли с применением программы DeepVariant [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Клиническая характеристика пациентов

Диагноз НАО I типа был установлен на основании клинических, лабораторных и генетических данных (табл. 1). У всех пациентов выявлены заниженные значения уровня и функциональной активности C1-ингибитора, а также наличие установленной или вероятностной патогенетически значимой мутации в гене *SERPING1*. Семейные случаи были обнаружены у 3 пациентов, у пациента мужского пола вариант в гене *SERPING1* был выявлен *de novo*.

Для прогноза патогенетической значимости найденных вариантов использовали семь независимых *in silico* инструментов-программ (ConSurf, PrimateAI, CADD, PolyPhen-2, SNPs&GO, PhD-SNP, MutationTaster2021). Эти программы используют различные алгоритмы, которые проверяют консервативность последовательностей, физико-химические свойства аминокислот и информацию о структуре белков для оценки потенциальной значимости генетических вариантов.

ConSurf – веб-сервер, позволяющий оценить влияние SNP на эволюционную консервативность каждой аминокислотной позиции в белке. Степень сохранения аминокислоты вычисляют на основе филогенетического древа близких гомологичных последовательностей. Значения от 1 до 5 указывают на вариабельность позиции, значения от 6 до 9 показывают высокую консервативность [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. PrimateAI – программа основана на использовании трехмерных структур белков и множественного выравнивания последовательностей в качестве входных данных. Прогноз патогенетической значимости происходит на основе анализа распределения замен у приматов [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. CADD – это основанная на машинном обучении программа оценки варианта, используемая для прогнозирования значимости SNP и их функционального воздействия в геноме человека. Высокие баллы показаны для вариантов, которые не стабилизируются отбором и способны вызывать заболевание. Напротив, низкий балл указывает скорее на нейтральный эффект изменения [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. PolyPhen-2 – веб-сервер, который использует комплекс структурных и филогенетических последовательностей для выявления патогенетически значимого варианта. Программа прогнозирует потенциальные последствия замены одной аминокислоты как для функции, так и для структуры белка [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. SNPs&GO – программа, основанная на методе опорных векторов. Алгоритм оценивает, связана ли аминокислотная замена с заболеванием, используя функциональные данные из GO (Gene Ontology), трёхмерную структуру белка и информацию об эволюционной последовательности белка. Оценка выше 0,5 свидетельствует о влиянии мутации на функцию нативного белка [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. PhD-SNP – это инструмент предназначенный для клинической интерпретации SNP с использованием нуклеотидной последовательности, трёхмерной структуры белка и функции белка. Значения варьируются от 0 до 1, где от 0 до 0,39 – замена не оказывает влияние на функциональность белкового продукта, от 0,4 до 1 – мутация скорее всего приводит к дефектному

белку [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. MutationTaster2021 – биоинформатическая программа, которая использует комплекс алгоритмов, основанных на анализе эволюционной консервативности, аннотации геномных регионов, прогнозе влияния на белковую структуру [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Rhapsody – веб-инструмент, позволяющий получить карту аминокислотных замен, основанную на изменении динамики и конфигурации белка. Программа включает параметры эволюционной консервативности, структурного окружения и гибкости аминокислот [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Анализ стабильности структуры белка

Стабильность структуры белка анализировалась с использованием программ и веб-ресурсов PredictSNP [Ошибка! Источник ссылки не найден.], MuPro [Ошибка! Источник ссылки не найден.], MutPred2 [Ошибка! Источник ссылки не найден.], Michelangelo-VENUS [Ошибка! Источник ссылки не найден.] и I-Mutant2.0 [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. PredictSNP соединяет прогнозы нескольких программ (SIFT, PolyPhen-2, SNAP и др.) на основе байесовского подхода. MuPro и I-Mutant2.0 программы, разработанные на основе машинного обучения и предназначенные для прогнозирования влияния измененных аминокислот на стабильность белка, используя значения свободной энергии Гиббса ($\Delta\Delta G$). $\Delta\Delta G > 0$ означает, что вариант может увеличить стабильность белка, тогда $\Delta\Delta G < 0$ говорит об уменьшении стабильности белка [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

MutPred2 – веб-ресурс, который анализирует различные характеристики белка от его трехмерной структуры до возможности связывания с нуклеиновыми кислотами или другими белками, показывает может ли аминокислотная замена влиять на развитие заболевания [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Michelangelo-VENUS – платформа визуализации внесенного изменения в трехмерную структуру белка. Инструмент визуализирует различные эффекты аминокислотной замены, отмечает, влияет ли вариант на сайты посттрансляционной модификации, а также определяет влияние на стабильность белка вариантов, которые затрагивают близлежащие остатки [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

DynaMut2 – веб-ресурс для оценки влияния мутаций на стабильность и динамику белка, учитывая подвижность его структуры и межатомные взаимодействия [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

SpliceAI – программа на основе нейронных сетей, предназначенная для оценки влияния изменений в транскрипте пре-мРНК в местах сайт-сплайсинга. Алгоритм прогнозирует потерю не только канонических сайтов, но и других критических регионов в регуляторных областях [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Прогнозирование структурных изменений с использованием 3D моделирования

Для сравнения изменения трехмерных структур дикого типа и мутированного белка были использованы модели белков, взятые из базы данных AlphaFold [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Проверку структур проводили в программе ChimeraX [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

MolProbity – онлайн-набор программ, который позволяет оценить качество белковой структуры. Программы анализируют стереохимические параметры: геометрию и длины связей, валентные углы, столкновения атомов, строят график Рамачандрана RMSD [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

3 Результаты

В результате полногеномного анализа у пациентов с диагнозом НАО I типа и подтвержденными патогенетическими вариантами в гене *SERPING1* были найдены дополнительные генетические изменения в генах *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6* (табл. 2).

Эволюционную консервативность аминокислотных позиций анализировали с помощью программы ConSurf [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Было показано, что позиция, в которой происходит аминокислотная замена p.Cys1167Arg в гене *MYOF* умеренно консервативна. При множественном выравнивании гомологов видно, что у большинства организмов сохраняется альтернативная аминокислота – серин. В двух других случаях p.Val2020Met гена *MYOF* и p.Arg181Gln гена *HS3ST6* измененные аминокислоты находятся в высоко консервативных позициях, что может указывать на функциональную значимость и вклад в стабильность и активность белка (рис. 1).

По данным комплексного анализа, наибольшую патогенетическую значимость среди рассмотренных вариантов имел NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6*. Варианты в гене *MYOF* показали противоречивые результаты: большинство программ прогнозируют вариант NM_013451.4:c.3499T>C как патогенетически значимый, однако программы PolyPhen-2 и E-SNPs&GO оценивают его как нейтральный. Аналогично, вариант NM_013451.4:c.6058G>A в гене *MYOF* в программе E-SNPs&GO расценивается как нейтральный (табл. 3).

В таблице 4 показано, что все исследуемые полиморфные варианты гена *MYOF* и *HS3ST6* приводят к изменению стабильности белка. Наибольшее отклонение от нативной конфигурации показал вариант p.Arg181Gln в гене *HS3ST6*, все программы, за исключением Michelangelo-VENUS, прогнозируют дестабилизирующий эффект. Согласно данным большинства использованных программ, вариант p.Cys1167Arg в гене *MYOF* является патогенетическим и влияет на структуру и стабильность белка. Второй вариант в этом же гене p.Val2020Met определен как дестабилизирующий, однако программы PredictSNP и Michelangelo-VENUS классифицируют его как нейтральный.

Для кодируемых регионов в программе Rhapsody была построена тепловая карта аминокислотных замен, которая позволяет выявить

критические позиции, изменения в которых способны привести к нарушениям в белке (рис. 2). Для варианта p.Arg181Gln в гене *HS3ST6* был показан наибольший дестабилизирующий эффект. По прогнозу программы почти каждая аминокислотная замена в этой позиции оказывает значимое влияние. Варианты p.Val2020Met и p.Cys1167Arg гена *MYOF* имеют достаточно низкие значения, что говорит о нейтральном воздействии замены на нативное состояние белка.

Изменение сайта-сплайсинга варианта NM_001102416.3:c.758-7C>G в гене *KNG1* проверяли с помощью программы SpliceAI. По результатам SpliceAI значение 0,04 указывает на минимальную вероятность образования нового акцепторного сайта. Такие низкие баллы не являются основанием для подтверждения нарушения сайт-сплайсинга.

4 Обсуждение

Различные формы НАО объединяет то, что они опосредованы повышением проницаемости эндотелиальных сосудов. Механизмы, которые приводят к этому эффекту, зависят от генетической детерминанты, которая определяет молекулярный путь, вовлеченный в патогенез заболевания [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Наряду с дефектами системы комплемента, в развитие заболевания могут быть вовлечены другие полиморфные варианты генов, которые затрагивают различные звенья калликреин-кининовой системы, фибринолиза, контактной системы, механизмов регуляции эндотелиальных сосудов, что может формировать гетерогенную архитектуру патогенеза НАО. Такие варианты, как правило, рассматриваются в качестве дополнительных генетических детерминант, которые могут вносить свой вклад в интенсивность клинических проявлений. Так было показано, что полиморфизм в гене *F12* -46C /T модулирует возраст начала симптомов и пенетрантность НАЕ-С1INH независимо от мутаций в гене *SERPING1* [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. В исследованиях полиморфизма с.428G/A (rs3733402) гена *KLKB1* было обнаружено, что у пациентов с НАО, несущих аллель G, наблюдался поздний дебют заболевания [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Выявление одного патогенетически значимого полиморфизма приводит к игнорированию поиска других вариантов в генах, ассоциированных с НАО. Такой подход чреват недооценкой участия остальных генов при низкой пенетрантности заболевания, вариант-ассоциированного ответа на терапию, вариабельности клинической картины. Поиск дополнительных генетических замен позволяет получить более полное представление о патогенезе НАО, что особенно важно при выявлении заболевания с семейной сегрегацией.

Так, при полногеномном секвенировании трех пациентов с диагнозом НАО, помимо патогенетически значимых вариантов в гене *SERPING1*, ответственных за развитие заболевания, были найдены дополнительные редкие варианты с неизвестной клинической значимостью в генах *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6*.

Вариант NM_013451.4:c.3499T>C в гене *MYOF* был найден у пациентки № 1 с тяжелым течением и ранним дебютом рецидивирующих отеков. Поскольку основной вариант NM_000062.3:c.789C>A в гене *SERPING1* не объясняет ранний дебют и недостаточную эффективность таргетной терапии ингибитором калликреина (ланаделумабом), найденный дополнительный полиморфизм в гене *MYOF* можно рассматривать как потенциально значимую замену.

По прогнозам программ PhD-SNP, CADD, PrimateAI, MutationTaster2021 вариант NM_013451.4:c.3499T>C в гене *MYOF* оценивается как патогенетически значимый. Однако программы PolyPhen-2 и E-SNPs&GO классифицируют этот вариант как нейтральный. Консервативность данной позиции в программе ConSurf остается неизменной в гомологичных белках разных организмов, что говорит о важности данной аминокислоты в общей функциональности белка. Программа Rhapsody оценивает замену p.Val2020Met как нейтральную, что не предполагает выраженного функционального эффекта. Область вокруг позиции 2020 белка *MYOF* не консервативна и допускает аминокислотную вариабельность. Вариант p.Val2020Met локализован в С-концевом трансмембранном сегменте *MYOF*, который обеспечивает фиксацию белка в мембране. Поскольку эта область определяет пространственное положение белка в липидном бислое, теоретически изменение аминокислоты может затрагивать взаимодействие белка с мембраной. Большинство программ, оценивающие влияние замен на структуру и устойчивость белка, не исключают возможных изменений свойств соответствующего домена. Замена валина на метионин, скорее всего, не приводит к потере гидрофобности и не влияет на общую структуру белка. Тем не менее, из-за более разветвленной боковой цепи метионин может образовывать дополнительные контакты с соседними атомами, что может влиять на локальную конфигурацию белка *MYOF* (рис. 3). Однако на сегодняшний день такие предположения не подтверждены экспериментально.

У пациентки № 2 был найден вероятно патогенетический вариант NM_000062.3:c.860T>G в гене *SERPING1* с дополнительным полиморфизмом p.Cys1167Arg неизвестного клинического значения в гене *MYOF*. Стоит отметить, что найденные мутации в гене *SERPING1* затрагивают один и тот же домен в С1-ингибиторе. У пациентки № 2 течение заболевания существенно отличалось от такового у пациентки № 1: дебют пришёлся на подростковый возраст, а проводимая терапия обеспечила стабильную ремиссию без эпизодов ангиоотёка. Это ещё раз указывает на роль дополнительных генетических вариантов в формировании клинической картины НАО.

Большинство используемых в настоящей работе инструментов *in silico* классифицировали вариант p.Cys1167Arg в гене *MYOF* как повреждающий. Анализ консервативности в программе ConSurf показал, что позиция белка 1167 является умеренно консервативной и в других организмах заменяется на серин – аминокислоту, химически родственную цистеину. Для полиморфного варианта p.Cys1167Arg по прогнозам всех использованных алгоритмов,

предназначенных для оценки изменения стабильности, выявлено дестабилизирующее действие на функциональность белка. Замена нейтральной аминокислоты цистеин на положительную аргинин может сильно сместить локальный электростатический баланс, что может привести к нарушению или потере взаимодействий соседних атомов. Большие по объёму аминокислоты способны нарушать стерическую структуру и приводить к неправильному сворачиванию белка [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Полиморфный вариант находится в начале C2D-домена, который отвечает за корректное связывание ионов Ca^{2+} для взаимодействия белка с клеточной мембраной (рис. 3). Замена аминокислоты в таком регионе может привести к ослаблению кальций-связывающей функции, что, вероятно, приведет к изменению ориентации домена на мембране, что может сказаться на биологической активности MYOF [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Оба варианта в гене *MYOF*, выявленные у пациентки № 1 и пациентки № 2, имеют низкую частоту встречаемости в популяционной базе данных GnomAD, что соответствует критерию PM2.

У пациентки № 3 с вариантом NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6* манифестация заболевания началась в раннем возрасте. При анализе семейных случаев установлено, что дочь и внучка несут ту же мутацию в *SERPING1*, однако соответствующий полиморфизм в *HS3ST6* у них отсутствует. На момент исследования клинические проявления заболевания у внучки в возрасте 10 лет отсутствуют, у дочери пациентки отмечается тяжелое течение. Полиморфизм NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6* находится в критической точке, каталитического домена, который отвечает за перенос сульфатной группы, необходимый для модификации гепарансульфата, что соответствует критерию PM1. Любое изменение в такой области может нарушить ферментативную активность белка, влияя на формирование сайтов-распознавания контактов и организацию сигнальных каскадов. В гене *HS3ST6* редко встречаются доброкачественные миссенс-варианты, чаще они являются причиной заболевания, что соответствует критерию PP2.

По данным анализа *in silico* вариант NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6* показал наиболее значимый патогенетический потенциал из всех рассматриваемых полиморфных вариантов. Большинство программ указали на дестабилизирующее действие замены p.Arg181Gln, что может сказаться на конформации белка и взаимодействиях с другими белками. На тепловой карте аминокислот показано, что область, в которой находится позиция 181 белка *HS3ST6* обладает высоким уровнем эволюционных и структурных ограничений (рис. 2). Замена аргинина на глутамин приводит к потере полярных, водородных и ионных контактов с соседями, образуя боковой разветвлённой цепью лишние ван-дер-ваальсовы связи с ближайшими остатками (рис. 4). Такое перераспределение контактов может способствовать разрушению общей конфигурации сульфотрансферазного домена и приводить к каталитической дисфункции белка.

Анализ по диаграмме Рамачандрана не выявил значимых различий между белком дикого типа и белком с мутацией во всех трех моделях белков *MYOF* и *HS3ST6*, что говорит об отсутствии глобальных стереохимических нарушений конформации каждого белка (Рисунок 5). Однако стоит отметить, что это не исключает значимых изменений в локальной архитектуре затронутых доменов.

При молекулярно-генетическом исследовании у пациента № 4 с ранней манифестацией заболевания установлен *de novo* вариант NM_000062.3:c.1480C>T в гене *SERPING1*, приводящий к образованию преждевременного стоп-кодона в 8 экзоне. Поскольку данный участок соответствует функционально важной части белка, выявленное изменение, по всей вероятности, сопровождается выраженным снижением уровня и активности С1-ингибитора. Дополнительно выявлен вариант NM_001102416.3:c.758-7C>G в гене *KNG1*. С учетом участия кининогена в регуляции брадикининового каскада можно предположить, что данное изменение способно вносить вклад в клиническую картину.

По данным программы SpliceAI полиморфизм NM_001102416.3:c.758-7C>G в гене *KNG1* продемонстрировал нейтральный эффект. Как правило, патогенетический эффект ассоциирован с изменением динуклеотидов канонических позиций +1/ +2 на 5'- донорном сайте или -1/ -2 на 3'- акцепторном сайте сплайсинга. Однако, из-за высоко консервативной позиции нуклеотидов в ближайшем окружении сайт-сплайсинга, изменения в других позициях также могут оказывать влияние на модификацию пре-мРНК в мРНК. Биоинформатический потенциал для неэкзонных областей генома сильно затруднен, поскольку такие регионы менее консервативны, и их функциональная роль аннотирована значительно хуже [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. NM_001102416.3:c.758-7C>G в гене *KNG1* не встречается в базах данных популяционных частот GnomAD, что соответствует критерию PM2. Полностью исключить влияния этого полиморфного варианта на сплайсинг нельзя, поэтому следует его рассматривать как предположительно нейтральный или вариант неизвестной клинической значимости до получения данных о семейной сегрегации и функционального анализа.

Все описанные генетические нарушения по отдельности не являются первопричиной НАО, однако, учитывая гетерогенный характер заболевания, вероятен кумулятивный эффект генов или независимый вклад полиморфных вариантов. Варианты в генах, ассоциированных с НАО, могут вносить свой вклад в общий патогенез и влиять на клинические проявления или ответ на терапию. Комплексная оценка *in silico* позволяет выявить потенциально моделирующие или рискованные варианты, которые становятся приоритетными кандидатами для дальнейшего анализа семейной сегрегации.

Ограничения исследования

Использование полногеномного секвенирования позволило расширить спектр выявленных генетических вариантов, однако при интерпретации клинически значимых находок целесообразно их подтверждение методом

Сэнгера. Накопленных данных о найденных вариантах и их сочетании с патогенетической заменой в гене *SERPING1* недостаточно, что ограничивает статистическую значимость и не позволяет провести четкую связь фенотип-генотип. Патогенетическая значимость найденных вариантов не подтверждена данными функционального анализа, что необходимо проводить для каждого нового найденного варианта с неизвестным клиническим значением. Полученные результаты нуждаются в дальнейшей валидации на расширенной когорте с семейным и функциональным анализом.

5 Заключение

Среди выявленных генетических вариантов полиморфизм NM_001009606.4:c.542G>A в гене *HS3ST6* представляет наибольшую потенциальную патогенетическую значимость, что подтверждается совокупностью популяционных и прогностических критериев. Остальные варианты в генах *MYOF*, *KNG1* демонстрируют возможную функциональную значимость, однако приведенных данных недостаточно для доказательств их дополнительного вклада в развитие наследственного ангиоотёка.

Результат анализа, полученный с помощью биоинформатических программ, является одним из критериев в оценке клинической значимости варианта в рамках руководства ACMG. При оценке учитывается комплексный анализ независимых алгоритмов, использующих различные типы данных и методологические подходы. Такой анализ критичен для первоначальной оценки варианта, но не является самостоятельным доказательством патогенетической значимости и применяется в совокупности с другими критериями.

Финансирование исследования: работа не имела финансовой поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Характеристика пациентов с диагнозом НАО I типа.**Table 1.** Characteristics of patients diagnosed with hereditary angioedema type I.

Номер пациента Patient No.	Пол Sex	Возраст Age	Найденный полиморфный вариант Identified polymorphic variant	Ген Gene	Клиническое проявление Clinical manifestations	Возраст дебюта Age of onset	Частота/ атак Attack frequency/severity	Триггеры Triggers	Уровень C1- ингибитора мг/дл (норма 15–35 мг/дл) C1- inhibitor level, mg/dL (normal 15–35 mg/dL)	Активность C1- ингибитора, % (норма 70-130%) C1- inhibitor activity, % (normal 70–130%)	Уровень C4 компонента комплемента, г/л (норма 0,160- 0,380 г/л) Complement component C4 level, g/L (normal 0.160– 0.380 g/L)
1	ж	42	NM_013451.4:c.3499T>C	MYOF	Периферические атаки, ларингеальные атаки, абдоминальные атаки	3 года 3 years	На такзайро – 1 раз в 2 года. До терапии – 2-3 АО в месяц On Takhzyro – once every 2 years. Before	Стресс, физ.нагрузки, травмы, менструальный цикл Stress, physical exertion,	5,69	26	0,167

					Peripheral attacks, laryngeal attacks, abdominal attacks		therapy – 2–3 angioedema attacks per month	trauma, menstrual cycle			
2	ж	54	NM_01345 1.4:c.6058 G>A	MYO F		14 лет (с менархе) 14 years (from menarche)	На такзайро – нет. До терапии – 2-3 АО в месяц On Takhzyro – none. Before therapy – 2–3 angioedema attacks per month	Стресс, физ.нагрузки, травмы, менструальный цикл Stress, physical exertion, trauma, menstrual cycle	0,1	9,55	0,0006
3	ж	63	NM_00100 9606.4:c.54 2G>A	HS3S T6		3 года 3 years	На такзайро – нет отеков. До терапии – 3-4 АО в месяц On Takhzyro – no edema. Before therapy – 3–4 angioedema attacks per month	Стресс, физ.нагрузки, травмы, менструальный цикл Stress, physical exertion, trauma, menstrual cycle	9	20,1	0,01
4	м	53	NM_00110 2416.3:c.75 8-7C>G	KNG 1		1 год 1 year	На такзайро – 1 раз в год. 2-3 раза в неделю. On Takhzyro – once per year. Before therapy –	Стресс, физ.нагрузки, травмы, спонтанно Stress, physical exertion,	2, 7	40, 55	0, 08

							2–3 times per week	trauma, spontaneous			
--	--	--	--	--	--	--	--------------------	---------------------	--	--	--

Таблица 2. Выявленные полиморфные варианты у пациентов с диагнозом НАО I типа.

Table 2. Identified polymorphic variants in patients diagnosed with type I hereditary angioedema.

Пациент Patient	Мутация в гене <i>SERPINC1</i> <i>SERPINC1</i> gene mutation	Ген Gene	Изменение ДНК DNA variant	Изменение аминокислоты Amino-acid change	Классификация ACMG ACMG classification	Частота встречаемости (GnomAD) Frequency of occurrence (GnomAD)
1	NM_000062.3:c.789C>A	<i>MYOF</i>	NM_013451.4:c.3499T>C	p.Cys1167Arg	PM2 (VUS), PP3_supporting	0.0006815
2	NM_000062.3:c.860T>G	<i>MYOF</i>	NM_013451.4:c.6058G>A	p.Val2020Met	PM2 (VUS), PP3_supporting	0.0005085
3	NM_000062.3:c.808_809delA CinsCAA	<i>HS3ST6</i>	NM_001009606.4:c.542G>A	p.Arg181Gln	PM2, PM1, PP2 (VUS), PP3_strong	0.001236
4	NM_000062.3:c.1480C>T	<i>KNG1</i>	NM_001102416.3:c.758-7C>G	-	PM2 (VUS)	-

Таблица 3. Результаты применения программ прогнозирования полиморфных вариантов *in silico*.

Table 3. Results of *in silico* prediction of polymorphic variants.

Ген Gene	SNV ID	Измен ение ДНК DNA variant	PolyPhe n-2	PhD-SNP	CAD D	Primat eAI	Mutatio nTaster 2021	E- SNPs& GO
MYOF	rs758 8039 00	NM_01 3451.4: с.3499 T>C	Нейтрал ьный Neutral	Полиморфизм , связанный с заболеванием Disease-related polymorphism	Пато гене тиче ский Path ogeni с	Патог енети чески й Patho genic	Дестаби лизир ующий Deleterio us	Нейтра льный Neutral
	rs125 6666 017	NM_01 3451.4: с.6058 G>A	Возмож но поврежд ающий Possibly damagin g	Полиморфизм , связанный с заболеванием Disease-related polymorphism	Пато гене тиче ский Path ogeni с	Патог енети чески й Patho genic	Дестаби лизир ующий Deleterio us	Нейтра льный Neutral
HS3ST6	rs765 5573 92	NM_00 100960 6.4:с.5 42G>A	Возмож но поврежд ающий Probably damagin g	Полиморфизм , связанный с заболеванием Disease-related polymorphism	Пато гене тиче ский Path ogeni с	Патог енети чески й Patho genic	Дестаби лизир ующий Deleterio us	Патогене тиче ский Pathoge nic

Таблица 4. Прогнозирование стабильности структуры белков
Table 4. Prediction of protein structure stability MYOF, HS3ST6

Ген Gene	Аминокислотная замена Amino Acid Change	MutPred2	I-Mutant 2.0	MuPro	PredictSNP	Michelangelo-VENUS	
						Свободная энергия Гиббса (значение $\Delta\Delta G$) Gibbs Free Energy ($\Delta\Delta G$ Value)	Изменение аминокислот Amino Acid Change
MYOF	p.Val2020Met	Патогенетически значимый Pathogenic	Уменьшение стабильности Decrease Stability	Уменьшение стабильности Decrease stability	Нейтральный Neutral	Вариант вряд ли окажет существенное влияние на стабильность белка Variant is unlikely to have a significant effect on protein stability	Валин (V) - неполярная, гидрофобная, часто располагается в гидрофобном ядре белка Methionine (M) - неполярная, слабо гидрофобная Valine (V) - nonpolar, hydrophobic, often located in the hydrophobic core of the protein.
	p.Cys167Arg	Неопределённый Borderline	Уменьшение стабильности Decrease stability	Уменьшение стабильности Decrease stability	Дестабилизирующий Deleterious	Вариант носит дестабилизирующее влияние на структуру белка Variant has a destabilizing effect on protein structure	Цистеин (C) - нейтральная гидрофильная аминокислота Аргинин (R) - положительно заряженное гидрофильная аминокислота Cysteine (C) - neutral, hydrophilic amino acid. Arginine (R) - positively charged, hydrophilic amino acid.

HS 3ST 6	p.Arg1 81Gln	Возмо жно патог нетич ески значи мый Possib ly pathog enic	Умень шение стабил ьности Decreas e stability	Умень шение стабил ьности Decreas e stability	Деста билизи рующ ий Delete rious	Вариант вряд ли окажет существенное влияние на стабильность белка Variant is unlikely to have a significant effect on protein stability	Аргинин (R) - положительно заряженное гидрофильная аминокислота Глутамин (Q) - кислая, полярная, отрицательно заряженная Arginine (R) - positively charged, hydrophilic amino acid. Glutamine (Q) - acidic, polar, negatively charged amino acid
----------------	-----------------	--	---	---	--	---	--

РИСУНКИ

Рисунок 1. Множественное выравнивание белков HS3ST6 и MYOF в разных организмах, демонстрирующее степень консервативности позиций
Figure 1. Multiple sequence alignment of the HS3ST6 and MYOF proteins in different organisms demonstrating the degree of conservation of the positions

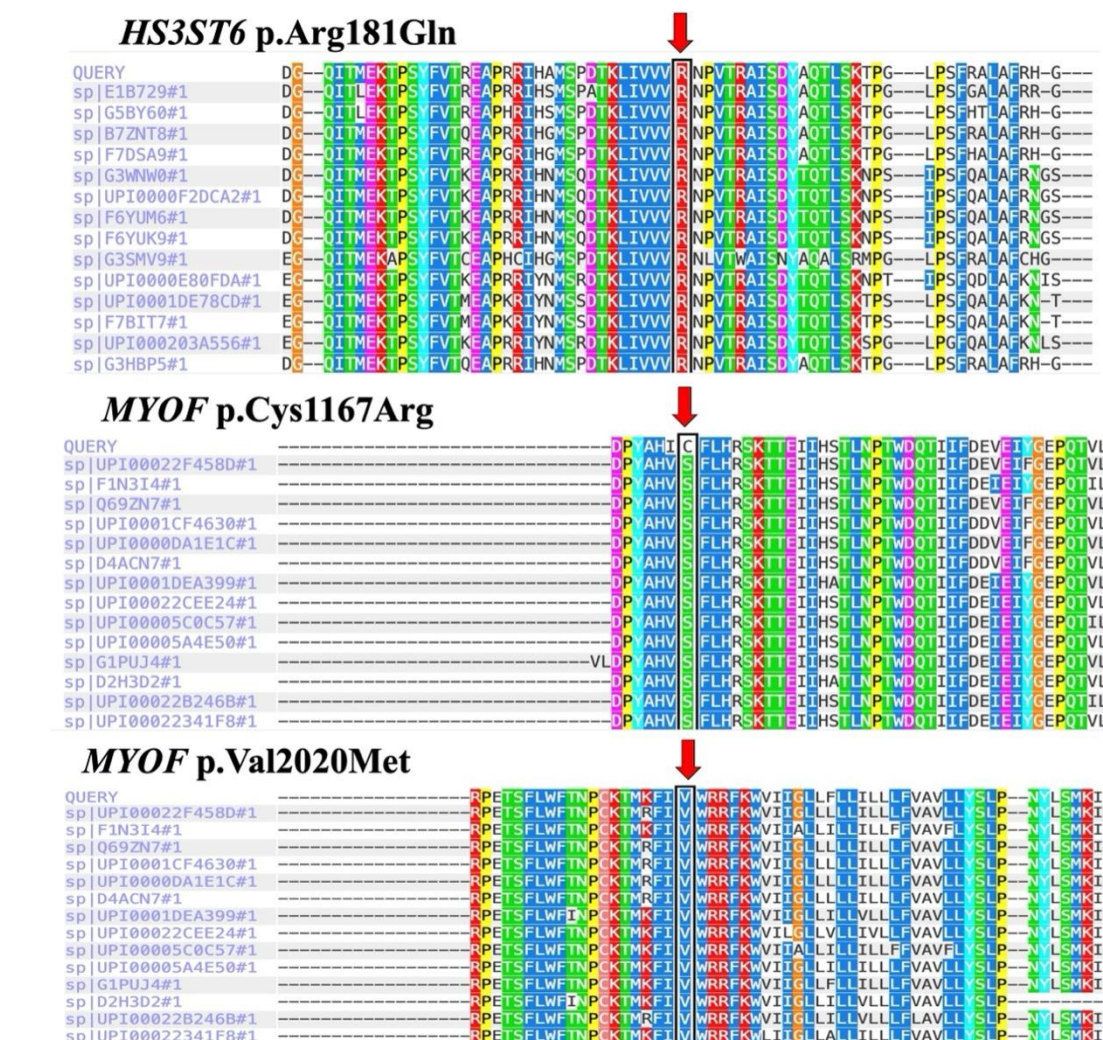


Рисунок 2. Тепловая карта аминокислотной последовательности белков HS3ST6 и MYOF, отражающая степень консервативности и вариабельности остатков. Цветовая шкала показывает вероятность патогенетической значимости аминокислотных замен: красные оттенки соответствуют более высокой вероятности функционального влияния, синие - более низкой. Нижние графики отражают среднее значение прогнозируемого эффекта замен вдоль аминокислотной последовательности. Красными кружками указаны позиции выявленных генетических замен.

А – представлен полиморфный вариант p.Arg181Gln в гене *HS3ST6*. Б – полиморфные варианты p.Val2020Met и p.Cys1167Arg в гене *MYOF*

Figure 2. Heatmap of the amino acid sequences of the HS3ST6 and MYOF proteins showing the degree of residue conservation and variability. The color scale indicates the predicted pathogenicity of amino acid substitutions: red shades correspond to a higher probability of functional impact, while blue shades indicate a lower probability. The lower plots represent the average predicted effect of substitutions along the amino acid sequence. Red circles indicate the positions of the identified genetic variants. A – polymorphic variant p.Arg181Gln in the *HS3ST6* gene. B – polymorphic variants p.Val2020Met and p.Cys1167Arg in the *MYOF* gene

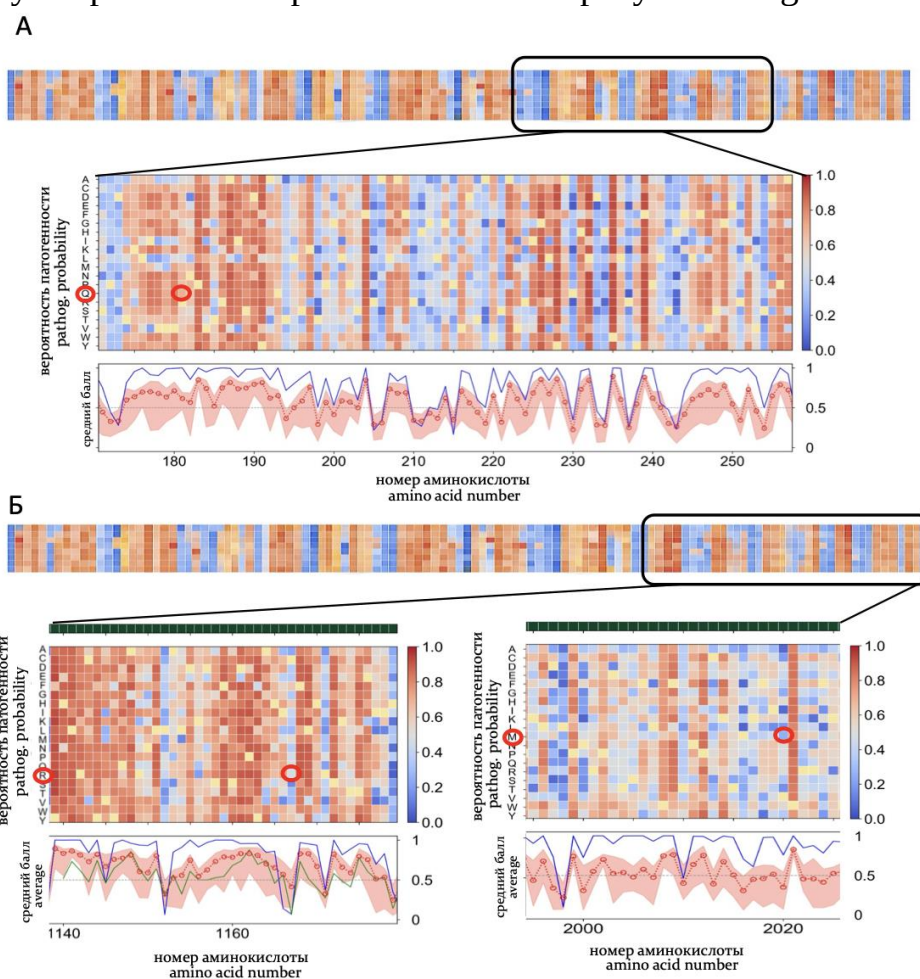


Рисунок 3. Структурная и доменная организация белка MYOF. На увеличенных фрагментах показано пространственное окружение соответствующих остатков и предполагаемые межатомные взаимодействия с соседними аминокислотами. А – Моделирование структурных изменений замены p.Val2020Met в белке MYOF в программе DynaMut2. Б – Моделирование структурных изменений замены p.Cys1167Arg в белке MYOF в программе DynaMut2. В – Расположение вариантов p.Cys1167Arg и p.Val2020Met в доменной архитектуре белка MYOF

Figure 3. Structural and domain organization of the MYOF protein. Enlarged fragments show the spatial environment of the corresponding residues and the predicted interatomic interactions with neighboring amino acids. A – modeling of structural changes caused by the p.Val2020Met substitution in the MYOF protein using the DynaMut2 program. B – modeling of structural changes caused by the p.Cys1167Arg substitution in the MYOF protein using DynaMut2. C – localization of the p.Cys1167Arg and p.Val2020Met variants within the domain architecture of the MYOF protein

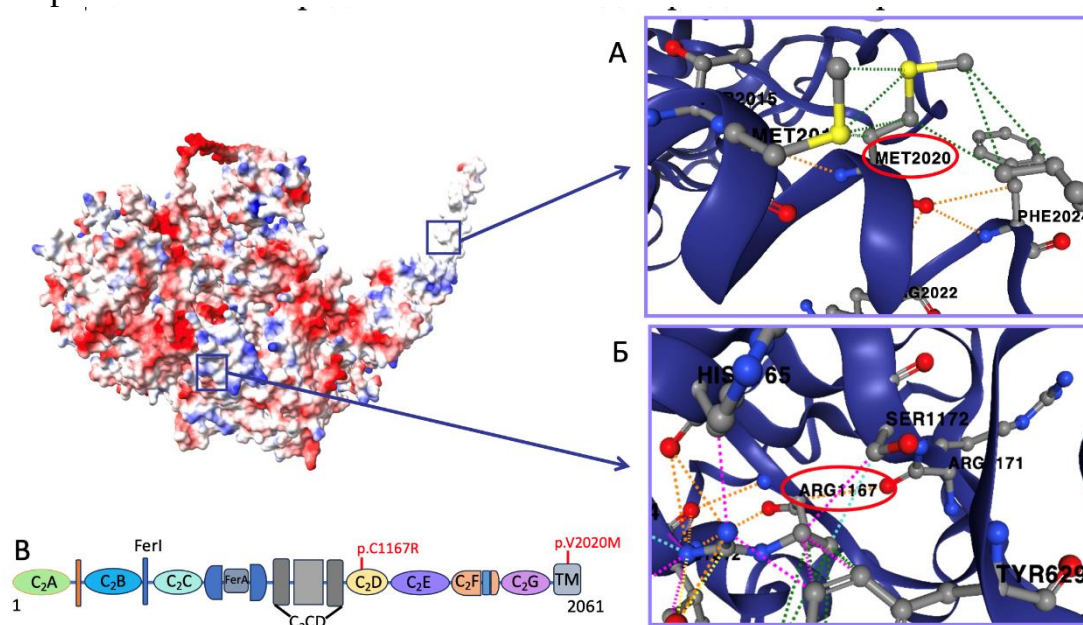


Рисунок 4. Структурный анализ белка дикого типа HS3ST6 и варианта p.Arg181Gln в программе DynaMut2. А – Моделирование белка HS3ST6 дикого типа с аминокислотой аргинин (Arg) в 181-й позиции в программе DynaMut2. Б – Моделирование белка HS3ST6 с аминокислотной заменой на глутамин (Gln) в 181-й позиции в программе DynaMut2

Figure 4. Structural analysis of the wild-type HS3ST6 protein and the p.Arg181Gln variant using DynaMut2. A – modeling of the wild-type HS3ST6 protein with arginine (Arg) at position 181 using DynaMut2. B – modeling of the HS3ST6 protein with the amino acid substitution to glutamine (Gln) at position 181 using DynaMut2

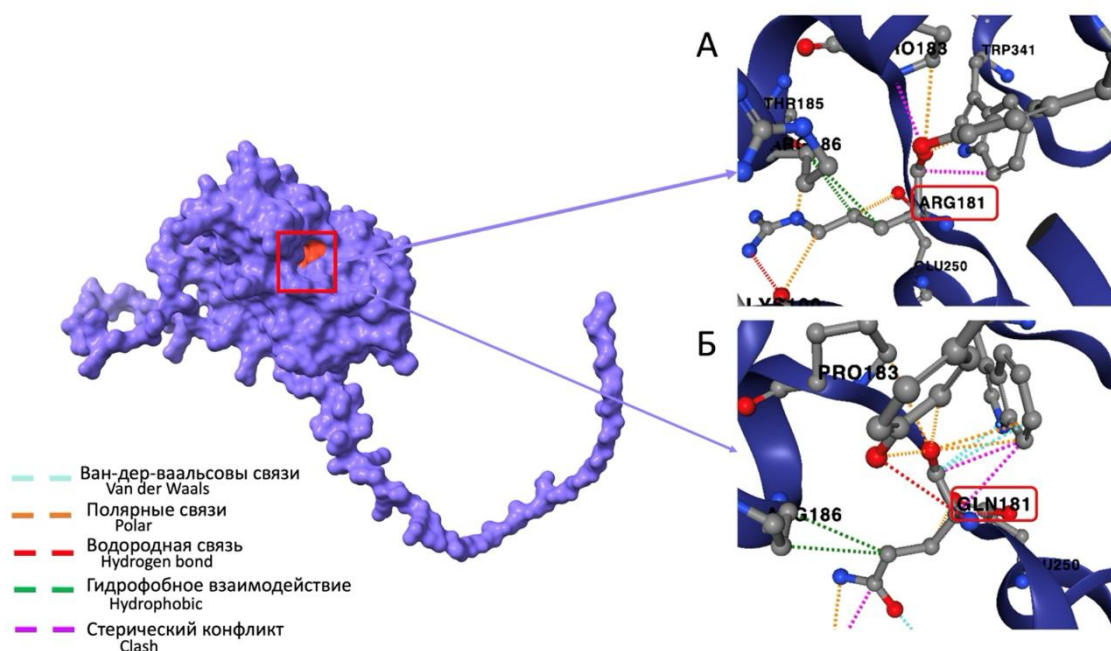
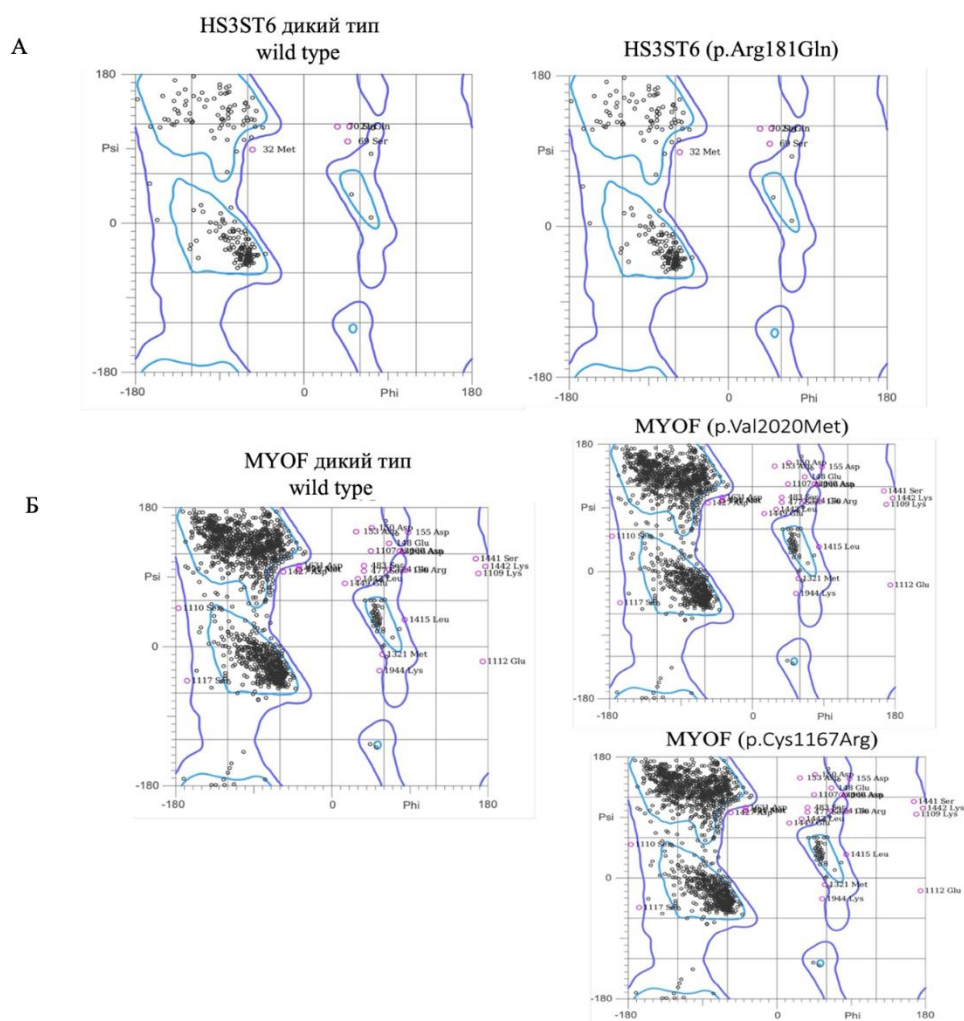


Рисунок 5. Сравнительный анализ стереохимических изменений белка HS3ST6 и MYOF. А – диаграмма Рамачандрана для белка HS3ST6 дикого типа и варианта (p. Arg181Gln), построенная с помощью программы MolProbity. Б – Диаграмма Рамачандрана для белка MYOF дикого типа и вариантов (p. Val2020Met, p. Cys1167Arg), построенная с помощью программы MolProbity. Распределение диэдральных углов (ϕ -горизонталь) и (ψ -вертикаль) демонстрирует, что большинство аминокислотных остатков в модели дикого и мутантного типа локализуются в допустимых местах, соответствующих типичным конформациям вторичной структуры (альфа-спирали и бета-листы)

Figure 5. Comparative analysis of stereochemical changes in the HS3ST6 and MYOF proteins. A – Ramachandran plot for the wild-type HS3ST6 protein and the variant (p.Arg181Gln) generated using the MolProbity program. B – Ramachandran plot for the wild-type MYOF protein and the variants (p.Val2020Met, p.Cys1167Arg) generated using the MolProbity program. The distribution of dihedral angles (ϕ - horizontal axis) and (ψ - vertical axis) demonstrates that the majority of amino acid residues in both the wild-type and mutant models are located within allowed regions corresponding to typical secondary structure conformations (α -helices and β -sheets)



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Останкова Юлия Владимировна – к.б.н., заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ, Санкт-Петербург, Россия

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14

Телефоны: 8 (812) 233-20-92 / +7 (996) 929-20-91

ORCID: 0000-0003-2270-8897

e-mail: shenna1@yandex.ru

Ostankova Yu. V. – PhD (Biology), Head of the Laboratory of Immunology and Virology HIV, Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Immunology St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Address: 197101, St. Petersburg, st. Mira, 14, St. Petersburg Pasteur Institute

Telephones: 8 (812) 233-20-92 / +7 (996) 929-20-91

ORCID: 0000-0003-2270-8897

e-mail: shenna1@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Седых Анна Васильевна (Sedykh Ann) – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Почтовый адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14; ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»
197101, St. Petersburg, st. Mira, 14, St. Petersburg Pasteur Institute

Телефон: 8 (812) 233-20-92, + 7 (996)-929-20-91

e-mail: ann_sedykh@mail.ru

Sedykh A. V. – Junior researcher at the Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0009-0003-0613-0383>

Савин Тихон Валерьевич – к.м.н., врач аллерголог-иммунолог ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14; ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»

тел: 8 (911) 288-39-74

e-mail: savintihon@gmail.com

Savin T. V. – PhD (Medical), allergist-immunologist at the Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology (a federal state budgetary institution) under the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia.
ORCID iD: 0000-0003-4550-4870

Петрусенко Юнна Сергеевна – научный сотрудник ООО «Биотек кампус».
Адрес: г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10
Телефон: +7(915)276-0028
e-mail: YPetrusenko@biotc.ru

Petrusenko Yu. S. – research associate at Biotech Campus LLC, Moscow, Russia.
ORCID iD: 0009-0002-8318-5241

Тотолян Арег Артемович (Totolian Areg) – Академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заведующий кафедрой иммунологии Первого Санкт-Петербургского медицинского университета имени академика И.П. Павлова. 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, тел: 8 (812) 232-00-66, e-mail: totolian@pasteurorg.ru

Totolian Areg A. – Academician of the Russian Academy of Sciences, PhD, MD (Medicine), Professor, Head at the Laboratory of Molecular Immunology, Director of the St. Petersburg Pasteur Institute; head Department of Immunology, First St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov.
ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Блок 3. Метаданные статьи

КОМПЛЕКСНЫЙ *IN SILICO* АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ
ГЕНОВ *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6* У ПАЦИЕНТОВ С НАО I ТИПА
COMPREHENSIVE *IN SILICO* ANALYSIS OF POLYMORPHIC VARIANTS IN
THE *KNG1*, *MYOF*, AND *HS3ST6* GENES IN PATIENTS WITH HAE TYPE I

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ *IN SILICO* ГЕНОВ *KNG1*, *MYOF*, AND *HS3ST6*
COMPREHENSIVE *IN SILICO* ANALYSIS OF THE *KNG1*, *MYOF*, AND
HS3ST6 GENES

Ключевые слова: первичный иммунодефицит, наследственный ангиоотек, биоинформатический анализ, *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6*, полиморфные варианты.
Keywords: primary immunodeficiency, hereditary angioedema, bioinformatic analysis, *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6*, polymorphic variants.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 11,

Количество таблиц – 4,

Количество рисунков – 5.

11.04.2026

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Печникова Н. А., Останкова Ю. В., Тотолян А. А. Применение биоинформатического анализа для выявления генов-кандидатов, ассоциированных с наследственным ангиоотеком //Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 24. – №. 1. – С. 135-154.	Pechnikova N.A., Ostankova Y.V., Totolian A.A. <i>Medicinskaya immunologiya</i> , 2023, Vol. 24, no. 1, pp. 135-154.	doi: 10.15789/1563-0625-AOB-2579.
2	Печникова Н. А., Останкова Ю. В., Сайтгалина М. А., Бебяков А. М., Тотолян А. А. Оценка влияния редкого синонимичного варианта гена <i>KNG1</i> на развитие наследственного ангиотека. //Медицинская иммунология. – 2024. – Т. 26. – № 1. – С. 203-210	Pechnikova N.A., Ostankova Yu. V., Saitgalina M.A., Bebyakov A.M., Totolian A.A. Evaluation of the influence of a rare synonymous variant of the <i>KNG1</i> gene on the development of hereditary angioedema. <i>Medicinskaya immunologiya</i> , 2024, Vol. 26, no. 1, pp. 203–210.	Doi :10.15789/1563-0625-ATI-2840

3	Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов, Союз педиатров России, Ассоциация медицинских генетиков, Национальная Ассоциация Экспертов в области Первичных Иммунодефицитов. Клинические рекомендации. Наследственный ангионевротический отек. – 2024.	Russian Association of Allergists and Clinical Immunologists, National Association of Experts in Primary Immunodeficiencies, Union of Pediatricians of Russia, Association of Medical Geneticists. Hereditary angioedema: clinical guidelines. -2024. [Electronic resource]	https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/267_2?utm_source=crm&utm_medium=email&utm_campaign=wim333_3_2_Gen_NAO_116002_CTE_NAO_180225&utm_content=btn_banner_top
4	Седых А. В., Останкова Ю. В., Щемелев А. Н., Тотолян А. А. Биоинформатический анализ однонуклеотидных вариантов гена <i>F12</i> , ассоциированных с наследственным ангиоотеком. //Медицинская иммунология. – 2025. – Т. 27. – №. 6. – С. 1369-1384.	Sedykh A.V., Ostankova Yu.V., Schemelev A.N., Totolian A.A. Bioinformatic analysis of single nucleotide variants in the <i>F12</i> gene associated with hereditary angioedema. <i>Medical Immunology</i> , 2025, Vol. 27, no. 6, pp. 1369-1384.	DOI: 10.15789/1563-0625-BAO-3235

5	Седых А.В., Петрусенко Ю.С., Останкова Ю.В., Миличкина А.М., Кузнецова Р.Н., Савин Т.В., Чеканов Н.Н., Северинов К.В., Тотолян А.А. Полногеномное секвенирование когорты пациентов с периферическими отеками (первичные данные). // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. – 2025. – Т. 104. – №2. – С. 135-148.	Sedykh A.V., Petrusenko Yu.S., Ostankova Yu.V., Milichkina A.M., Kuznetsova R.N., Savin T.V., Chekanov N.N., Severinov K.V., Totolian A.A.. Whole-genome sequencing of a cohort of patients with peripheral oedema. <i>Pediatrics n.a. G.N. Speransky</i> , 2025, Vol. 104, no. 2, pp. 135-148.	DOI: 10.24110/0031-403X-2025-104-2-135-148
6	Adzhubei I., Jordan D.M., Sunyaev S.R. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. <i>Curr. Protoc. Hum. Genet.</i> , 2013, Vol. 76, no. 1, pp. 7–20.		DOI: 10.1002/0471142905.hg0720s76
7	Alrouwab O., Mansour T., Mansour S.A., Swaed A.M.A. Prediction and Structural Comparison of Deleterious Missense Single Nucleotide Polymorphisms (nsSNPs)		doi: 10.64943/ljmas.v3i3.112

	Associated with Respiratory Distress Syndrome. <i>Libyan J. Medical and Applied Sciences</i> , 2025, pp. 36–47.		
8	Arachchige N.D., Sirisena N.D., De Silva S., Senathilake K.S., Faizan M., Dissanayake V.H. Comprehensive bioinformatics analysis of selected germline variants of uncertain significance identified in a cohort of Sri Lankan hereditary breast cancer patients. <i>Hum. Genomics</i> , 2025, Vol. 19, no. 1, p. 12.	-	Doi: 10.1186/s40246-024-00703-8
9	Ashkenazy H., Erez E., Martz E., Pupko T., Ben-Tal N. ConSurf 2010: calculating evolutionary conservation in sequence and structure of proteins and nucleic acids. <i>Nucleic Acids Res.</i> , 2010, Vol. 38, Suppl. 2, pp. 529–533.	-	doi: 10.1093/nar/gkq399
10	Bendl J., Stourac J., Salanda O., Pavelka A., Wieben E.D., Zendulka J., Damborsky J.	-	doi: 10.1371/journal.pcbi.1003440

	PredictSNP: robust and accurate consensus classifier for prediction of disease-related mutations. <i>PLoS Comput. Biol.</i> , 2014, Vol. 10, no. 1.		
11	Calabrese R., Capriotti E., Fariselli P., Martelli P.L., Casadio R. Functional annotations improve the predictive score of human disease-related mutations in proteins. <i>Human mutation.</i> , 2009, Vol. 30, no. 8, pp. 1237–1244.	-	Doi: 10.1002/humu.21047
12	Capriotti E., Fariselli P., Casadio R. I-Mutant2.0: predicting stability changes upon mutation from the protein sequence or structure. <i>Nucleic Acids Res.</i> , 2005, Vol. 33, Suppl. 2, pp. 306–310.	-	Doi: 10.1093/nar/gki375.
13	Cheng J., Randall A., Baldi P. Prediction of protein stability changes for single-site mutations using support vector	-	doi: 10.1016/j.ejim.2018.09.004

	machines. <i>Proteins</i> , 2006, Vol. 62, no. 4, pp. 1125–1132.		
14	Colia A.L., Ranaldi A., Santacroce R., D'Andrea G., Maffione A.B., Margaglione M., D'Apolito M. Vasculopathy: a possible factor affecting hereditary angioedema. 2025, Vol. 4, no. 1.	-	doi: 10.4081/btvb.2025.152
15	D'Apolito M., Santacroce R., Vazquez D.O., Cordisco G., Fantini C.A., D'Andrea G., Margaglione M. DAB2IP associates with hereditary angioedema: insights into the role of VEGF signaling in HAE pathophysiology. <i>J. Allergy Clin. Immunol.</i> , 2024, Vol. 154, no. 3, pp. 698–706.	-	doi: 10.1016/j.jaci.2024.05.017
16	Davis I.W., Leaver-Fay A., Chen V.B., Block J.N., Kapral G.J., Wang X., Richardson D.C. MolProbity: all-atom contacts and structure validation for proteins and	-	doi: 10.1093/nar/gkm216

	nucleic acids. <i>Nucleic Acids Res.</i> , 2007, Vol. 35, Suppl. 2, pp. 375–383.		
17	Dominguez M.J., McCord J.J., Sutton R.B. Redefining the architecture of ferlin proteins: Insights into multi-domain protein structure and function. <i>PLoS One</i> , 2022, Vol. 17, no. 7.	-	doi: 10.1371/journal.pone.0270188
18	Ferla M.P., Pagnamenta A.T., Koukouflis L., Taylor J.C., Marsden B.D. Venus: elucidating the impact of amino acid variants on protein function beyond structure destabilisation. <i>J. Mol. Biol.</i> , 2022, Vol. 434, no. 11, p. 167567.	-	doi: 10.1016/j.jmb.2022.167567
19	Gao H., Zhao Y., Chen S., Zhang Z., Yang F., Chen Z., Luo X. Expanding the Genetic and Clinical Spectrum of Hereditary Angioedema with Normal C1 Inhibitor: Novel Variants and Treatment Insights. <i>J. Clin. Immunol.</i> , 2025, Vol. 45, no. 1, pp. 1–15.		doi: 10.1007/s10875-025-01912-z

20	Germenis A.E., Sanoudou D. Incidental findings related to genes associated to HAE-nC1INH: how to proceed? <i>Front. Immunol.</i> , 2025, Vol. 16.		doi: 10.3389/fimmu.2025.1605727
21	Goddard T.D., Huang C.C., Meng E.C., Pettersen E.F., Couch G.S., Morris J.H., Ferrin T.E. UCSF ChimeraX: Meeting modern challenges in visualization and analysis. <i>Protein Sci.</i> , 2018, Vol. 27, no. 1, pp. 14–25.		doi: 10.1002/pro.3235
22	Gong T., Yang L., Shen F., Chen H., Pan Z., Zhang Q., Zhang Y. Computational and mass spectrometry-based approach identify deleterious non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) in JMJD6. <i>Molecules</i> , 2021, Vol. 26, no. 15, p. 4653.		doi: 10.3390/molecules26154653
23	Grivčeva-Panovska V., Košnik M., Korošec P., Andrejević S.,		doi: 10.1080/07853890.2018.1449959.

	Karadža-Lapić L., Rijavec M. Hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency in Macedonia: clinical characteristics, novel <i>SERPING1</i> mutations and genetic factors modifying the clinical phenotype. <i>Ann. Med.</i> , 2018, Vol. 50, no. 3, pp. 269–276.		
24	Jaganathan K., Panagiotopoulou S.K., McRae J.F., Darbandi S.F., Knowles D., Li Y.I., Farh K.K.H. Predicting splicing from primary sequence with deep learning. <i>Cell</i> , 2019, Vol. 176, no. 3, pp. 535–548.		doi: 10.1016/j.cell.2018.12.015
25	Jones D., Zafra H., Anderson J. Managing diagnosis, treatment, and burden of disease in hereditary angioedema patients with normal C1-esterase inhibitor. <i>J. Asthma Allergy</i> , 2023, pp. 447–460.		doi: 10.2147/JAA.S398333

26	Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., Hassabis D. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. <i>Nature</i> , 2021, Vol. 596, no. 7873, pp. 583–589.		doi: 10.1038/s41467-020-19669-x
27	Kaplan A.P., Joseph K. Pathogenic mechanisms of bradykinin mediated diseases: dysregulation of an innate inflammatory pathway. <i>Adv. Immunol.</i> , 2014, Vol. 121, pp. 41–89.		doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00002-7
28	Li H., Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform. <i>Bioinformatics</i> , 2010, Vol. 26, no. 5, pp. 589–595.		https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp698
29	Lumry W.R., Settipane R.A. Hereditary angioedema: Epidemiology and burden of disease. <i>Allergy Asthma Proc.</i> , 2020, Vol. 41, Suppl. 1, pp. 8–13.		doi: 10.2500/aap.2020.41.200050.

30	Parsopoulou F., Loules G., Zamanakou M., Csuka D., Szilagyi A., Kompoti M., Germeis A.E. Searching for genetic biomarkers for hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency (C1-INH-HAE). <i>Front. Allergy</i> , 2022, Vol. 3.		doi: 10.3389/falgy.2022.868185
31	Pejaver V., Urresti J., Lugo-Martinez J., Pagel K.A., Lin G.N., Nam H.J., Radivojac P. Inferring the molecular and phenotypic impact of amino acid variants with MutPred2. <i>Nat. Commun.</i> , 2020, Vol. 11, no. 1, p. 5918.		doi: 10.1038/s41467-020-19669-x
32	Ponzoni L., Peñaherrera D.A., Oltvai Z.N., Bahar I. Rhapsody: predicting the pathogenicity of human missense variants. <i>Bioinformatics</i> , 2020, Vol. 36, no. 10, pp. 3084–3092.		doi: 10.1093/bioinformatics/btaa127
33	Poplin R., Chang P.C., Alexander D., Schwartz S., Colthurst T., Ku A.,		https://doi.org/10.1038/nbt.4235

	Newburger D., Dijamco J., Nguyen N., Afshar P.T., Gross S.S., Dorfman L., McLean C.Y., DePristo M.A. A universal SNP and small-indel variant caller using deep neural networks. <i>Nat. Biotechnol.</i> , 2018, Vol. 36, no. 10, pp. 983–987.		
34	Rodrigues C.H., Pires D.E., Ascher D.B. DynaMut2: Assessing changes in stability and flexibility upon single and multiple point missense mutations. <i>Protein Science</i> , 2021, Vol. 30, no. 1, pp. 60–69.		doi: 10.1002/pro.3942
35	Santacroce R., D’Andrea G., Maffione A.B., Margaglione M., D’Apolito M. The genetics of hereditary angioedema: a review. <i>Journal of clinical medicine.</i> , 2021, Vol. 10, no. 9, p. 2023.		doi: 10.3390/jcm10092023
36	Steinhaus R., Proft S., Schuelke M., Cooper D.N., Schwarz J.M., Seelow D. MutationTaster2021. <i>Nucleic</i>		doi: 10.1093/nar/gkab266

	<i>Acids Research</i> , 2021, Vol. 49, no. W1, pp. W446–W451		
37	Sundaram L., Gao H., Padigepati S.R., McRae J.F., Li Y., Kosmicki J.A., Farh K.K.H. Predicting the clinical impact of human mutation with deep neural networks. <i>Nature genetics</i> , 2018, Vol. 50, no. 8, pp. 1161–1170.		doi: 10.1038/s41588-018-0167-z
38	Tabarini N., Biagi E., Uva P., Iovino E., Pippucci T., Seri M., Viti F. Exploration of tools for the interpretation of human non-coding variants. <i>International Journal of Molecular Sciences</i> , 2022, Vol. 23, no. 21, p. 12977.		doi: 10.3390/ijms232112977
39	Tokuriki N., Tawfik D.S. Stability effects of mutations and protein evolvability. <i>Current opinion in structural biology</i> , 2009, Vol. 19, no. 5, pp. 596–604		doi: 10.1016/j.sbi.2009.08.003
40	Tutunaru C.V., Ică O.M., Mitroi G.G., Neagoe C.D., Mitroi G.F., Orzan O.A.,		doi: 10.3390/biom14101298

	Bălăceanu-Gurău B., Ianoși S.L. Unveiling the Complexities of Hereditary Angioedema. <i>Biomolecules</i> , 2024, Vol. 14, no. 10, Art. 1298.		
41	Van Der Velde K.J., Kuiper J., Thompson B.A., Plazzer J.P., van Valkenhoef G., de Haan M., InSiGHT Group. Evaluation of CADD scores in curated mismatch repair gene variants yields a model for clinical validation and prioritization. <i>Human mutation</i> , 2015, Vol. 36, no. 7, pp. 712–719.		doi: 10.1002/humu.22798
42	Vatsiou S., Zamanakou M., Loules G., Psarros F., Parsopoulou F., Csuka D., Germanis A.E. A novel deep intronic SERPING1 variant as a cause of hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. <i>Allergology International</i> ,		doi: 10.1016/j.alit.2019.12.009.

	2020, Vol. 69, no. 3, pp. 443–449.		
43	Zuraw B.L., Bork K., Bouillet L., Christiansen S.C., Farkas H., Garmeniz A.E., Maurer M. Hereditary angioedema with normal C1 inhibitor: an updated International consensus paper on diagnosis, pathophysiology, and treatment. <i>Clinical reviews in allergy & immunology</i> , 2025, Vol. 68, no. 1, p. 24.		doi: 10.1007/s12016-025-09027-4