

## ПРИМЕНЕНИЕ БИОИНФОРМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИССЕНС- МУТАЦИЙ ГЕНА *HS3ST6* В РАЗВИТИИ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОТЕКА

Печникова Н.А.<sup>1</sup>, Останкова Ю.В.<sup>1</sup>, Сайтгалина М.А.<sup>1</sup>, Бебяков А.М.<sup>1</sup>,  
Денисова А.Р.<sup>2,3</sup>, Подчерняева Н.С.<sup>2</sup>, Тотолян Арег А.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Наследственный ангиоотек (НАО) – генетически детерминированное заболевание, характеризующееся повторяющимися отеками, поражающими подкожные и/или подслизистые слои ткани, лицо, губы, шею, конечности, ротовую полость, кишечник и/или гортань. В последнем случае заболевание становится опасным для жизни. Преимущественно НАО связан со снижением уровней С1 (ингибитор С1-эстеразы), описаны НАО с дисфункциональным и с нормальным С1-ингибитором. При первом и втором вариантах причиной заболевания становятся мутации в гене *C1NH*. НАО с нормальным количественным и функциональным уровнями С1-ингибитора имеет те же клинические проявления, но с мутациями в иных генах, в том числе *F12*, *PLG*, *ANGPT1*, *KNG1*, *MYOF*, *HS3ST6*. В настоящее время мутации в гене *HS3ST6* остаются малоизученными, описана только одна миссенс-мутация (p.Thr144Ser, rs746467957), связанная с развитием НАО.

Целью нашей работы являлось изучение новых мутаций в гене *HS3ST6* и прогностический анализ *in silico* их характера и клинической значимости для развития НАО.

Материалом служили образцы цельной крови, полученные от 13 пациентов с симптомами НАО без снижения уровней и функции С1-INH.

### Адрес для переписки:

Останкова Юлия Владимировна  
ФБУН «Санкт-Петербургский  
научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии имени Пастера»  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.  
Тел.: 8 (812) 233-20-92.  
E-mail: shenna1@yandex.ru

### Address for correspondence:

Yulia V. Ostankova  
Saint Petersburg Pasteur Institute  
14 Mira St  
St. Petersburg  
197101 Russian Federation  
Phone: +7 (812) 233-20-92.  
E-mail: shenna1@yandex.ru

### Образец цитирования:

Н.А. Печникова, Ю.В. Останкова, М.А. Сайтгалина,  
А.М. Бебяков, А.Р. Денисова, Н.С. Подчерняева,  
Арег А. Тотолян «Применение биоинформатического  
анализа для прогностической оценки клинической  
значимости миссенс-мутаций гена *HS3ST6* в развитии  
наследственного ангиоотека» // Медицинская  
иммунология, 2023. Т. 25, № 1. С. 135-154.  
doi: 10.15789/1563-0625-ABA-2577

© Печникова Н.А. и соавт., 2023  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

N.A. Pechnikova, Yu.V. Ostankova, M.A. Saitgalina,  
A.M. Bebyakov, A.R. Denisova, N.S. Podchernyaeva,  
Areg A. Totolian "Applying bioinformatic analysis for prognostic  
assessment of the *HS3ST6* missense mutations clinical  
significance in the development of hereditary angioedema",  
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,  
2023, Vol. 25, no. 1, pp. 135-154.  
doi: 10.15789/1563-0625-ABA-2577

© Pechnikova N.A. et al., 2023  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License  
DOI: 10.15789/1563-0625-ABA-2577

Методы исследования включали секвенирование полного экзона пациентов, биоинформатический анализ мутаций гена *HS3ST6* с использованием ряда баз данных и веб-ресурсов для прогноза влияния мутаций на белок и оценки консервативности позиций обнаруженных мутаций.

Мутации в гене *HS3ST6* выявлены у четырех больных, в том числе два случая с двумя мутациями одновременно. Применение биоинформатического анализа позволило получить новые данные о четырех миссенс-мутациях в исследуемом гене. Для трех из них определена потенциальная патогенетическая значимость. Для мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V) наиболее вероятным путем участия в патогенезе НАО является косвенное нарушение О-сульфирования гепарансульфата непосредственно внутри белка. Мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A (p.P199L), по всей видимости, приводит к развитию заболевания за счет нарушения соединения с гепарансульфатом SDC2. При мутации NC\_000016.9:g.1962046C>T (p.A192T) дестабилизация 192 аминокислотной позиции рядом с RAPS может способствовать срыву О-сульфирования гепарансульфата за счет нарушения функциональной активности белка и, соответственно, катализа переноса сульфогруппы на гепарансульфат синдекана-2. Во всех трех случаях представляется возможным формирование НАО в связи с нарушением этапов О-сульфирования гепарансульфата синдекана-2.

Учитывая, что методы *in silico* открывают новые возможности оценки патогенетической значимости мутаций, применение биоинформатического анализа может способствовать детальному исследованию истоков НАО. В настоящей работе убедительно показано, что редкие мутации в гене *HS3ST6*, могут быть задействованы в патогенезе НАО и провоцировать отеки за счет повышенного релиза брадикинина.

*Ключевые слова:* первичные иммунодефициты, наследственный ангиоотек, ген *HS3ST6*, патогенетически значимые мутации, полиморфизм, биоинформатические технологии, анализ *in silico*

## APPLYING BIOINFORMATIC ANALYSIS FOR PROGNOSTIC ASSESSMENT OF THE *HS3ST6* MISSENSE MUTATIONS CLINICAL SIGNIFICANCE IN THE DEVELOPMENT OF HEREDITARY ANGIOEDEMA

Pechnikova N.A.<sup>a</sup>, Ostankova Yu.V.<sup>a</sup>, Saitgalina M.A.<sup>a</sup>, Bebyakov A.M.<sup>a</sup>, Denisova A.R.<sup>b, c</sup>, Podchernyaeva N.S.<sup>b</sup>, Totolian Areg A.<sup>a, d</sup>

<sup>a</sup> Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> B. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

<sup>d</sup> First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Hereditary angioedema (HAE) is a genetically determined disease characterized by recurrent attacks of edema affecting the subcutaneous and/or submucosal layers of tissue, face, lips, neck, extremities of the body, oral cavity, intestine and/or larynx. In the latter case, the disease becomes life-threatening. The majority of HAE cases are associated with decreased levels of C1 (C1-esterase inhibitor), there are also descriptions of HAE with dysfunctional C1 inhibitor and HAE with normal C1 inhibitor. In the first and second variants, mutations in the C1NH gene are the cause of the disease. HAE with normal quantitative and functional levels of C1-inhibitor has the same clinical manifestations but with mutations in other genes, including *F12*, *PLG*, *ANGPT1*, *KNG1*, *MYOF*, and *HS3ST6*. Currently, mutations in the *HS3ST6* gene remain poorly understood; only one missense mutation (p.Thr144Ser, rs746467957) associated with the development of HAE has been described.

The aim of our work was to study new mutations in the *HS3ST6* gene and analyze *in silico* their prognostic nature and clinical significance for the development of hereditary angioedema.

The material was whole blood samples obtained from 13 patients with symptoms of hereditary angioedema without reduced levels and function of C1-INH.

Whole exome sequencing of patients, bioinformatic analysis of *HS3ST6* gene mutations using a number of databases and Web resources to predict the effect of mutations on the protein and assess the conservatism of the positions of the mutations detected was involved in study methods.

Mutations in the *HS3ST6* gene were identified in four patients, including two cases with two mutations simultaneously. Application of bioinformatic analysis allowed us to obtain new data on four missense mutations in the studied gene. Potential pathogenetic significance was determined for three of them. The mutation NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V) is most likely to be involved in pathogenesis of HAE by indirect disruption of heparan sulfate O-sulfation directly within the protein. The NC\_000016.9:g.1962024G>A mutation (p.P199L) appears to lead to the development of the disease through disruption of docking with SDC2 heparan sulfate. In the NC\_000016.9:g.1962046C>T (p.A192T) mutation, destabilization of the 192 amino acid position next to PAPS, may contribute to disruption of heparan sulfate O-sulfation through disruption of protein functional activity and, therefore, catalysis transfer of sulfo group to heparan sulfate syndecan-2. Thus, in all three cases, the formation of HAE appears to be possible due to disruption of the O-sulfation steps of heparan sulfate syndecan-2.

Considering that *in silico* methods offer new opportunities to assess the pathogenetic significance of mutations, the application of bioinformatic analysis can contribute to a detailed investigation of the causes of hereditary angioedema. The present work convincingly demonstrates that rare mutations in the *HS3ST6* gene may be involved in the pathogenesis of HAE and provoke edema due to increased bradykinin release.

*Keywords:* primary immunodeficiencies, hereditary angioedema, *HS3ST6* gene, pathogenetically significant mutations, polymorphism, bioinformatic technologies, *in silico* analysis

## Введение

Иммунодефициты, возникающие в результате недостаточности или отсутствия элементов иммунной системы, включая лимфоциты, фагоциты и компоненты системы комплемента, подразделяют на первичные, генетически обусловленные, и вторичные, причиной которых становятся внешние факторы, например, вирусные инфекции, дефицит питательных веществ и другие [25]. В свою очередь первичные иммунодефициты (ПИД) классифицируют на типы, связанные с дефицитом Т-клеток, В-клеток, одновременно Т- и В-клеток, дефицитом компонентов комплемента, фагоцитов, иммуноглобулина А [4]. Одним из заболеваний, относящихся к ПИД, связанным с дефицитом компонентов комплемента, является ангиоотек (АО) [2].

Ангиоотек представляет собой неочаговый отек, поражающий подкожные и/или подслизистые слои ткани, лицо, губы, шею, конечности, ротовую полость, кишечник и/или гортань. В последнем случае заболевание становится опасным для жизни [12]. Ангиоотеки подразделяют на приобретенный (аллергический, не аллергический, идиопатический и другие) и наследственный [12].

Для больных наследственным ангиоотеком (НАО) характерно отсутствие реакции на антигистаминные препараты, кортикостероиды или адреналин, при этом серьезность заболевания обусловлена изменчивой клинической картиной, сопровождающейся непредсказуемыми спорадическими отеками, наибольшую опасность из которых представляют способные привести к асфиксии, а значит к необратимым повреждениям мозга, слепоте, параличу конечностей и смерти, отеки гортани [7, 8, 23, 26]. Частота летального

исхода от отека гортани встречается в 1 случае на 20 пациентов [22]. Наследственная форма ангиоотека (НАО) в большинстве случаев связана со снижением уровней С1 (ингибитор С1-эстеразы), С4 (С4-компонент комплемента), С1q (С1q-компонент системы комплемента), выявлением и повышением уровней антител к С1 [20]. В настоящее время разработана новая номенклатура для замены ранее использовавшихся обозначений НАО 1-го, 2-го и 3-го типа: НАО с дефицитом С1-ингибитора (тип 1), НАО с дисфункциональным С1-ингибитором (тип 2) и НАО с нормальным С1-ингибитором. У пациентов с НАО типа 1 дефицит ингибитора С1 обусловлен мутациями в гене *SERPING1* (*C1NH*), для которого в настоящее время описано более 150 различных мутаций, в том числе миссенс, нонсенс, сдвиг рамки считывания, делеции и инсерции, приводящие к появлению белков неправильной конформации, которые в конечном итоге не могут быть секретированы [1]. НАО типа 2 также связан с геном *C1NH*, однако в этих случаях мутации происходят в активном сайте реактивной подвижной петли или рядом с ним, в результате чего белок-ингибитор С1 секретируется, но не функционирует, в связи с чем уровень антигена С1 INH в плазме нормальный или повышенный, в то время как функция белка снижена. НАО с нормальным количественным и функциональным уровнями С1-ингибитора имеет те же клинические проявления, но не связан с мутациями в гене *C1NH*. Пути патогенеза этого варианта НАО до конца не выяснены, однако известны мутации в ряде генов, связанные с развитием заболевания [5]. В частности, определены связанные с заболеванием мутации в генах, кодирующих фактор свертываемости крови 12 (*F12*), плазминоген (*PLG*), ангиопоэтин-1 (*ANGPT1*), кининоген-1 (*KNG1*),

миоферлин (*MYOF*) и гепарансульфат-глюкозамин 3-О-сульфотрансфераза 6 (*HS3ST6*) [10, 11, 14, 21, 32]. Поскольку НАО является редким, малознакомым для врачей заболеванием, имеющим разную силу и локализацию проявлений у одного и того же больного, дифференциальный диагноз может быть затруднен [3]. Так, например, медицинские работники, сталкивающиеся с пациентами с необъяснимой рецидивирующей болью в животе, а также иными абдоминальными симптомами, включая вздутие живота, спазмы, тошноту, рвоту и диарею при отсутствии сопутствующего отека кожи, часто не распознают заболевание, что приводит к задержке диагностики, увеличивая вероятность ненужных диагностических и лечебных операций или процедур, а также потенциального риска связанных с ними осложнений [34]. Трудности идентификации у пациентов НАО не позволяют своевременно назначить высокоэффективные таргетные методы терапии, способные значительно улучшить состояние и качество жизни больных, а также снизить вероятность летального исхода. Однако, в то время как развитие НАО опосредовано брадикинином, другие типы ангиоотека могут быть опосредованы гистамином или иными механизмами, и их дифференциация имеет решающее значение. К сожалению, не существует единого достоверного диагностического теста, позволяющего дифференцировать гистамин-опосредованные и брадикинин-опосредованные ангиоотеки, поэтому для подтверждения НАО необходимо выявление клинически значимых мутаций. Таким образом, молекулярно-генетические исследования, позволяющие подтвердить наследственную природу развития заболевания, являются ключевой составляющей диагностики.

Тем не менее выявления какой-либо модификации ассоциированного с НАО гена не достаточно для подтверждения наследственной патологии, так как обнаруженные изменения могут оказаться всего лишь следствием естественного полиморфизма, не связанного с заболеванием. Так, в настоящее время мутации в гене *HS3ST6* остаются малоизученными, описана только одна миссенс-мутация, представляющая собой замену треонина на серин в позиции 144 (p.Thr144Ser, rs746467957), связанная с развитием НАО [9].

Биоинформатические методы *in silico* позволяют оценивать потенциальную патогенетическую значимость и значимость выявленных при полноэкзомном анализе мутаций для развития заболевания без экспериментальных исследований и набора выборок достаточного для статистической достоверности объема, что затруднительно при работе с такими редкими патологиями, как ПИД.

**Целью нашей работы** явилось изучение новых мутаций в гене *HS3ST6* и прогностический анализ *in silico* их характера и клинической значимости для развития наследственного ангиоотека.

## Материалы и методы

### Материалы

В работе использовали образцы цельной крови, полученные от 13 пациентов с симптомами наследственного ангиоотека. Исследования проводили при письменном согласии пациентов или их родителей. Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера».

### Методы

#### Получение геномной ДНК

Отбор образцов крови осуществляли из локтевой вены одноразовой иглой в вакуумные одноразовые пробирки, содержащие антикоагулянт этилендиаминтетрауксусная дикалиевая или трикалиевая соль (6% ЭДТА). Пробирку с закрытой крышкой аккуратно переворачивали несколько раз вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом, не допуская образования сгустка крови. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитарного кольца в соответствии с методикой, приведенной в руководстве Самбрук и др. [31], с модификациями. Концентрацию экстрагированных образцов ДНК оценивали на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen, США) с помощью набора реактивов Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc.). Качество анализируемой ДНК оценивали с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies Inc., США).

#### Полноэкзомное секвенирование

Полноэкзомное секвенирование ДНК выполняли на платформе Illumina NextSeq 500 методом парно-концевого чтения (2 × 151 п.н.) со средним покрытием не менее 70-100x. Для пробоподготовки использовали методику селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Для приготовления библиотек использовали набор для экзомного обогащения Nextera Rapid Capture Exome (Illumina, USA), комплект зондов которого разработан для обогащения 214 405 экзонов, что, в сочетании с однородным и специфическим обогащением, обеспечивает наиболее полное доступное секвенирование экзома и надежную идентификацию истинных кодирующих вариантов. Набор применяли, согласно протоколу производителя.

#### Биоинформатический анализ на платформе Illumina

Для анализа использовали необработанные результаты секвенирования, полученные с помощью

Illumina NextSeq. После удаления фрагментов, содержащих последовательности адаптеров, данные полноэкзомного секвенирования были загружены в облачное хранилище BaseSpace Sequence Hub, обеспечивающее доступ к вычислительным мощностям и аналитическим решениям BaseSpace Apps. Для анализа использовали аналитическую платформу Illumina DRAGEN Bio-IT Platform, при этом эталонный геном hg19 переводили во внутренний двоичный формат системы DRAGEN и готовили bed-файл таргетных участков экзома. Запуск программы осуществляли в формате “--enable-variant-caller true” для анализа полиморфных вариантов в наиболее эффективном режиме пайплайна. В автоматическом режиме были удалены считывания низкого качества, произведены выравнивания считываний с эталонной последовательностью, построены гаплотипы-кандидаты для обнаружения наиболее вероятных диплоидных комбинаций полиморфных вариантов (SNV, InDel) и произведена их аннотация в dbSNP. Для объединения информации о представленности полиморфных вариантов в различных базах и создания единой таблицы использовали сервис VariantInterpreter (<https://variantinterpreter.informatics.illumina.com>).

Создание и наполнение таблиц данных о частотах полиморфных вариантов в популяциях, а также об их патогенетической значимости из базы ClinVar, осуществляли с использованием Python-скрипта. Учитывали данные со значениями Quality более 30 и TotalDepth более 4.

#### **Биоинформатический анализ *in silico***

Анализ представлений третичной структуры белка, его отделов, затрагиваемых обнаруженными мутациями, и непосредственно мутаций были выполнены с использованием веб-ресурса PyMOL Molecular Graphics System, версия 2.4 (<https://pymol.org/2/>, Schrodinger LLC). Модель строили на базе исходного файла структуры белка, загруженного посредством SWISSMODEL ([swissmodel.expasy.org](http://swissmodel.expasy.org)) с идентификацией Q96Q15 (*HS3S6\_HUMAN*). Визуализировали третичную структуру *HS3ST6*, выгружая выходные данные в графическом представлении.

Прогноз влияния исследуемых однонуклеотидных замен на структуру белка выполняли с использованием веб-сервера нового поколения Have Our Protein Explained (HOPE), доступного по адресу <https://www3.cmbi.umcn.nl/hope> [6, 36]. Алгоритм работы включал загрузку аминокислотной последовательности исследуемого белка дикого типа с последующим введением мутации в анализируемую позицию. Обработку данных осуществляли согласно предустановленным алгоритмам с представлением результата в виде текстового файла прогноза влияния мутации на белок.

Анализ влияния выявленных мутаций на стабильность белка проводили с использованием веб-ресурсов MUpPro (<http://mupro.proteomics.ics.uci.edu/>) [9, 33], I-Mutant2.0 (<http://gpcr.biocomp.unibo.it/~emidio/I-Mutant2.0/dbMut.html>) [13]. Ресурс I-Mutant2.0 для расчета изменения свободной энергии Гиббса ( $\Delta\Delta G$ , ккал/моль) и индекса надежности (RI) по данным последовательности белка применяли в режиме: pH 7,0 и 37 °C. Расчеты стабильности белка осуществляли посредством I-Mutant Suite в режиме «изменения»: прогнозирование изменения стабильности белка при одноточечной мутации, значение DDG ( $\Delta\Delta G$ , ккал/моль) и двоичная классификация на основе последовательности белка. Изменение стабильности мутировавшего белка по сравнению с его формой дикого типа определяется как разница в соответствующих свободных энергиях разворачивания двух сравниваемых белков ( $\Delta\Delta G$  или DDG (энергия Гиббса), ккал/моль). Таким образом,  $\Delta\Delta G$  или DDG представляют собой прогноз значения изменения энергии Гиббса с использованием метода опорных векторов (MUpPro и I-Mutant Suite), который характерен для исследуемой мутации. Значения  $\Delta\Delta G < 0$  показывают снижение показателя энергии Гиббса (т. е. насколько снизится стабильность белка), в то же время значения  $\Delta\Delta G > 0$  показывают рост показателей энергии Гиббса (т. е. насколько повысится стабильность белка). RI (индекс надежности) является показателем оценки прогноза для I-Mutant Suite, чем выше значение, тем достовернее прогноз [9, 13, 33].

Для прогноза патогенетической значимости выявленных мутаций использовали веб-ресурсы I-Mutant Disease (<http://gpcr2.biocomp.unibo.it/cgi/predictors/I-Mutant3.0/I-Mutant3.0.cgi>), PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) и MutationTaster2021 (ENST00000293937, <http://www.mutationtaster.org>) [6, 21]. При этом параметр «статус» демонстрирует наличие или отсутствие влияния мутации на организм человека и определяет ее как патогенетически значимую (способна вызывать заболевания) или нейтральную (не приводит к развитию заболевания). Значение RI (индекс надежности) — является оценкой прогноза веб-ресурса I-Mutant Disease, варьирующей от 0 до 10, при этом чем выше значение RI, тем достовернее прогноз. PolyPhen-2 использовали также для прогноза возможного влияния замещения аминокислоты на структуру и функции белка человека. PolyPhen-2 использует прогноз по HumDiv (варианты менделевской болезни в сравнении с расхождением с близкими гомологами белков человека у млекопитающих (~95% идентичности последовательности) и HumVar (все человеческие варианты, связанные

с каким-либо заболеванием (за исключением мутаций, вызывающих онкологию) или потерей активности/функции по сравнению с распространенным вариантом (частота минорного аллеля > 1%) человеческого полиморфизма без сообщений об ассоциации с заболеванием с другим эффектом). Численные значения NumDiv и NumVar демонстрируют вероятность того, что замена нанесет ущерб, т. е. чем выше число, тем выше вероятность негативного влияния мутации. Установленные алгоритмы автоматически рассчитывают данные о нейтральности или патогенетической значимости исследуемой мутации [http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/dokuwiki/docs].

Для оценки тканевой специфичности РНК белка HS3ST6 использовали базу данных ProteinAtlas (<https://www.proteinatlas.org/>), анализируя данные экспрессии РНК на основе нормализованных кодирующих белок транскриптов на миллион (nTPM).

## Результаты

При анализе результатов полноэкзомного секвенирования мутации в гене *HS3ST6* были выявлены у пяти человек из 13 (38,46%), в том числе одна девочка и четыре мальчика. Показаны четыре мутации, приводящие к аминокислотным заменам, при этом у двух пациентов выявляли по две мутации. Интересно, что, несмотря на отсутствие родственных связей,

миссенс-мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A и NC\_000016.9:g.1962046C>T представлены у двух пациентов, а миссенс-мутация NC\_000016.9:g.1961674G>C у трех пациентов, причем в одном случае замена в гомозиготной форме (табл. 1).

### Оценка влияния точечных мутаций на структуру белка

Влияние точечной мутации на структуру белка связано, прежде всего, с особенностями заменяемых и заменяющих аминокислот, т. е. молекулярной массой, гидропатией и другими параметрами (табл. 2).

Консервативность позиций мутаций и их влияние на белок оценивали с использованием веб-ресурса MutationTaster2021, результаты анализа представлены в таблицах 3 и 4.

В основе оценки консервативности позиции MutationTaster2021 лежит выравнивание последовательности рассматриваемого гена с гомологичными аминокислотными или нуклеотидными последовательностями десяти видов живых организмов. При анализе статус эволюционной сохранности (особенности) обозначают либо как полностью идентичные — аминокислоты в аминокислотной последовательности человека и гомолога, либо как сохраняемые, т. е. сходные аминокислоты в человеческой и гомологичной аминокислотной последовательности, либо как не сохраняемые, т. е. разные аминокислоты в по-

**ТАБЛИЦА 1. ВЫЯВЛЕННЫЕ МИССЕНС-МУТАЦИИ В ГЕНЕ *HS3ST6* У ПАЦИЕНТОВ С СИМПТОМАМИ НАСЛЕДСТВЕННОГО АНГИОТЕКА**

TABLE 1. IDENTIFIED MISSENSE MUTATIONS IN THE *HS3ST6* GENE IN PATIENTS WITH SYMPTOMS OF HEREDITARY ANGIOEDEMA

Пациент Patient	Мутация Mutation	Частота встречаемости в мире Frequency	ClinVar	Носительство Carrying
1 ♀	NC_000016.9:g.1962132G>A, p.A163V	0,34966	rs8055325	Гетерозигота Heterozygote
1 ♀	NC_000016.9:g.1961674G>C, p.L316V	0,52666	rs337285	Гомозигота Homozygote
3 ♂	NC_000016.9:g.1962046C>T, p.A192T	0,34778	rs1742399	Гетерозигота Heterozygote
3 ♂	NC_000016.9:g.1962132G>A, p.A163V	0,34966	rs8055325	Гетерозигота Heterozygote
9 ♂	NC_000016.9:g.1961674G>C, p.L316V	0,52666	rs337285	Гетерозигота Heterozygote
12 ♂	NC_000016.9:g.1962024G>A, p.P199L	0,00194	rs189679573	Гетерозигота Heterozygote
14 ♂	NC_000016.9:g.1961674G>C, p.L316V	0,52666	rs337285	Гетерозигота Heterozygote

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ АМИНОКИСЛОТ ПО ДАННЫМ IMGT Aide-mémoire

TABLE 2. CHARACTERISTICS OF AMINO ACIDS ACCORDING TO IMGT Aide-mémoire

Аминокислота Amino acid	Мол. масса (Да) Molecular weight (Da)	Кол-во атомов Number of atoms	Объем Volume (Å <sup>3</sup> ) [23]	Индекс гидропатии Hydropathy index [15]	Атомы-доноры Donor Atoms	Акцепторы водорода Hydrogen acceptors
Аланин Alanine	89	13	88,6	1,8 (гидрофобная) (hydrophobic)	Нет No	Нет No
Пролин Proline	115	17	112,7	-1,6 (нейтральная) (neutral)	Нет No	Нет No
Валин Valine	117	19	140,0	4,2 (гидрофобная) (hydrophobic)	Нет No	Нет No
Триптофан Tryptophan	119	17	116,1	-0,7 (нейтральная) (neutral)	Да Yes	Да Yes
Лейцин Leucine	131	22	166,7	3,8 (гидрофобная) (hydrophobic)	Нет No	Нет No

ТАБЛИЦА 3. АНАЛИЗ ЗНАЧИМОСТИ ЛОКАЛИЗАЦИИ МИССЕНС-МУТАЦИЙ ПО ДАННЫМ ВЕБ-РЕСУРСА MutationTaster2021

TABLE 3. ANALYSIS OF THE SIGNIFICANCE OF LOCALIZATION OF MISSENSE MUTATIONS ACCORDING TO THE MutationTaster2021

Диапазон Range		Особенности Features	Эффект* Effect*
<b>NC_000016.9:g.1962132G&gt;A (p.A163V)</b>			
50	342	Топологический домен – люминальный Topological domain – luminal	Утрачен Lost
181	181	Отвечает за связывание с PAPS (фосфоаденозинфосфосульфат) Responsible for binding to PAPS (phosphoadenosine phosphosulfate)	Может быть утрачен May be lost
189	189	Отвечает за связывание с PAPS (фосфоаденозинфосфосульфат) Responsible for binding to PAPS (phosphoadenosine phosphosulfate)	Может быть утрачен May be lost
192	192	Замена аминокислот А > Т Amino acid substitution A > T	Может быть утрачен May be lost
220	221	Регион, отвечающий за связывание с белковым субстратом Region responsible for binding to protein substrate	Может быть утрачен May be lost
281	281	Наличие углеводородной связи с другими позициями, участок, отвечающий за гликозилирование Presence of a hydrocarbon bond with other positions, the site responsible for glycosylation	Может быть утрачен May be lost
288	288	Наличие дисульфидной связи с другими позициями Presence of disulfide bond with other positions	Может быть утрачен May be lost
300	300	Наличие дисульфидной связи с другими позициями Presence of disulfide bond with other positions	Может быть утрачен May be lost
305	309	Сайт связывания нуклеотидфосфата PAPS (фосфоаденозинфосфосульфат) Nucleotide phosphate binding site PAPS (phosphoadenosine phosphosulfate)	Может быть утрачен May be lost

Таблица 3 (окончание)  
Table 3 (continued)

Диапазон Range		Особенности Features	Эффект* Effect*
316	316	<b>Замена аминокислоты L &gt; V</b> Amino acid substitution L > V	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
<b>NC_000016.9:g.1961674G&gt;C (p.L316V)</b>			
50	342	<b>Топологический домен – люминальный</b> Topological domain – luminal	<b>Утрачен</b> Lost
316	316	<b>Замена аминокислоты L &gt; V</b> Amino acid substitution L > V	<b>Утрачен</b> Lost
<b>NC_000016.9:g.1962046C&gt;T (p.A192T)</b>			
50	342	<b>Топологический домен – люминальный</b> Topological domain – luminal	<b>Утрачен</b> Lost
192	192	<b>Замена аминокислот A &gt; T</b> Amino acid substitution A > T	<b>Утрачен</b> Lost
220	221	<b>Регион, отвечающий за связывание с белковым субстратом</b> Region responsible for binding to the protein substrate	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
281	281	<b>Наличие углеводородной связи с другими позициями, участок, отвечающий за гликозилирование</b> Presence of a hydrocarbon bond with other positions, the site responsible for glycosylation	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
288	288	<b>Наличие дисульфидной связи с другими позициями</b> Presence of disulfide bond with other positions	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
300	300	<b>Наличие дисульфидной связи с другими позициями</b> Presence of disulfide bond with other positions	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
305	309	<b>Сайт связывания нуклеотидфосфата PAPS (фосфоаденозинфосфосульфат)</b> Nucleotide phosphate binding site PAPS (phosphoadenosine phosphosulfate)	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
316	316	<b>Замена аминокислоты L &gt; V</b> Amino acid substitution L > V	<b>Может быть утрачен</b> May be lost
<b>NC_000016.9:g.1962024G&gt;A (p.P199L)</b>			
50	342	<b>Топологический домен – люминальный</b> Topological domain – luminal	<b>Утрачен</b> Lost

Примечание. \* – «Утрачен» – обмен аминокислотами, вызванный рассматриваемым изменением (мутацией), затрагивает функцию и/или особенности белка указанной области; «Может быть утрачен» – из-за изменения сайта сплайсинга отсутствует экзон или белок укорочен из-за кодона преждевременной терминации. В таких случаях свойства/функции белка затрагиваются косвенно.

Note. \*, "Lost", the amino acid exchange caused by the change (mutation) in question affects the function and/or features of the protein of the specified region; "May be lost", due to splicing site change there is no exon or the protein is shortened due to a premature termination codon. In such cases, the properties/functions of the protein are indirectly affected.

следовательности белка человека и гомолога, а также отсутствие гомолога – гомолог исследуемой позиции отсутствует у того или иного вида.

Таким образом, с помощью веб-ресурсов NOPE и MutationTaster2021 были получены прогностические данные о потенциальном влиянии выявленных аминокислотных замен на структуру и функцию белка на основании информации о локализации исследуемых позиций, а также

различий аминокислот в норме и при замене. Миссенс-мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A, p.A163V и NC\_000016.9:g.1962046C>T, p.A192T потенциально способны приводить к потере функциональной активности люминального домена и, соответственно, модификациям в строении белка, изменениям сайта сплайсинга, изменениям функции белка. Мутация NC\_000016.9:g.1961674G>C, p.L316V мо-



**ТАБЛИЦА 4. ОЦЕНКА КОНСЕРВАТИВНОСТИ ПОЗИЦИЙ ВЫЯВЛЕННЫХ МУТАЦИЙ ПО ДАННЫМ ВЕБ-РЕСУРСА MutationTaster2021**

TABLE 4. ASSESSMENT OF THE POSITIONS CONSERVATIVITY OF IDENTIFIED MUTATIONS ACCORDING TO THE WEB RESOURCE MutationTaster2021

Вид* Type*	Особенности Features	Ген** Gene**	Позиция Position	Участок Site
<b>NC_000016.9:g.1962132G&gt;A (p.A163V)</b>				
<i>Human</i>			163	EKTPSYFVTREAPGRIHGMSPDTK
<i>Mutated</i>	Не сохраняется Not saved		163	EKTPSYFVTREVPGRIHGMSPDTK
<i>Ptroglogytes</i>	Не сохраняется Not saved	ENSPTRG00000007616	156	EKT-----
<i>M. mulatta</i>	Нет гомолога No homologue			
<i>F. catus</i>	Идентичные Identical	ENSFCAG00000011735	163	EKTPSYFVTREAPGRIHGMSPDT
<i>M. musculus</i>	Идентичные Identical	ENS- MUSG00000039628	163	EKTPSYFVTQEAPRRIHGMSPDT
<i>G. gallus</i>	Нет гомолога No homologue			
<i>T. rubripes</i>	Идентичные Identical	ENSTRUG00000006242	99	EKTPSYFVTKEAPGRVCAMNCQT
<i>D. rerio</i>	Идентичные Identical	ENS DARG00000059948	177	EKTPSYFITHEAPARVFSMSRGT
<i>D. melano-gaster</i>	Не сохраняется Not saved	FBgn0031005	204	EKTPSYFVTKEVPQRVYHMNPAT
<i>C. elegans</i>	Идентичные Identical	F52B10.2	101	EKSPAYFH SKMAPERIKSLNPNT
<i>X. tropicalis</i>	Идентичные Identical	ENSXETG00000007214	152	EKTPSYFVTMEAPKRIYNMSSDT
<b>NC_000016.9:g.1961674G&gt;C (p.L316V)</b>				
<i>Human</i>			316	KGRPHPRVPQALVRRRLQEFYRPFN
<i>Mutated</i>	Сохраняется Saved		316	KGRPHPRVPQAVRRLQEFYRPF
<i>P. troglodytes</i>	Сохраняется Saved	ENSPTRG00000007616	253	KGRPHPRVPQAVRRLQEFYRPF
<i>M. mulatta</i>	Нет гомолога No homologue			
<i>F. catus</i>	Сохраняется Saved	ENSFCAG00000011735	316	KGRPHPRVPEAVRRLRDFYRPF
<i>M. musculus</i>	Сохраняется Saved	ENS- MUSG00000039628	316	KGRPHPRVPEAVVQRLQAFYRPF
<i>G. gallus</i>	Нет гомолога No homologue			

Таблица 4 (продолжение)  
Table 4 (continued)

Вид* Type*	Особенности Features	Ген** Gene**	Позиция Position	Участок Site
<b>T. rubripes</b>	Сохраняется Saved	ENSTRUG00000006242	253	KGRPHPHIPPEVLQRLREFYRPF
<b>D. rerio</b>	Сохраняется Saved	ENSDARG00000059948	331	KGRAHPQIPPDVLHRLRDFYRPF
<b>D. melanogaster</b>	Не сохраняется Not saved	FBgn0031005	358	KGRNHPHIDPGAIERLREFYRPF
<b>C. elegans</b>	Сохраняется Saved	ENSXETG00000007214	266	-----EPSVLKTLREFYGPE
<b>X. tropicalis</b>	Сохраняется Saved	F52B10.2	305	-----TKVLQRLQEFYRPY
<b>NC_000016.9:g.1962046C&gt;T (p.A192T)</b>				
<b>Human</b>			192	RNPVTRAISDYAQTLSKTPG LPSF
<b>Mutated</b>	Не сохраняется Not saved		192	RNPVTRAISDYTQTLKTPG LPS
<b>P. troglodytes</b>	Не сохраняется Not saved	ENSPTRG00000007616	157	-----
<b>M. mulatta</b>	Нет гомолога No homologue			
<b>F. catus</b>	Идентичные Identical	ENSFCAG00000011735	192	RNPVTRAISDYAQTLSKTPG LPS
<b>M. musculus</b>	Идентичные Identical	ENS- MUSG00000039628	192	RNPVTRAISDYAQTLSKTPG LPS
<b>G. gallus</b>	Нет гомолога No homologue			
<b>T. rubripes</b>	Не сохраняется Not saved	ENSTRUG00000006242	128	RDPVTRALSDYTQTLKSNPG LPS
<b>D. rerio</b>	Не сохраняется Not saved	ENSDARG00000059948	206	RDPVTRAVSDYTQTLKSN
<b>D. melanogaster</b>	Не сохраняется Not saved	FBgn0031005	233	RDPVTRAISDYTQAASKKAD MKL
<b>C. elegans</b>	Не сохраняется Not saved	F52B10.2	130	RDPVTRAISDYTQSSSKRKRVL MPS
<b>X. tropicalis</b>	Не сохраняется Not saved	ENSXETG00000007214	181	RNPVTRAISDYTQTLKTPS LPS
<b>NC_000016.9:g.1962024G&gt;A (p.P199L)</b>				
<b>Human</b>			199	ISDYAQTLSKT GLPSFRALAFRH
<b>Mutated</b>	Не сохраняется Not saved		199	ISDYAQTLSKTLGLPSFRALAFR
<b>P. troglodytes</b>	Не сохраняется Not saved	ENSPTRG00000007616	164	-----RALAFR
<b>M. mulatta</b>	Нет гомолога No homologue			

Таблица 4 (окончание)  
Table 4 (continued)

Вид* Type*	Особенности Features	Ген** Gene**	Позиция Position	Участок Site
<i>F. catus</i>	Идентичные Identical	ENSFCAG00000011735	199	ISDYAQTLSKTPGLPSFRALAFR
<i>M. musculus</i>	Идентичные Identical	ENS- MUSG00000039628	199	ISDYAQTLSKTPGLPSFRALAFR
<i>G. gallus</i>	Нет гомолога No homologue			
<i>T. rubripes</i>	Идентичные Identical	ENSTRUG00000006242	135	LSDYTQTLKPNGLPSFQSLALK
<i>D. rerio</i>	Идентичные Identical	ENSDARG00000059948	213	-----PGLPSFQSLVFK
<i>D. melanogaster</i>	Не сохраняется Not saved	FBgn0031005	240	ISDYTQAASKKADMKLFEQLAFV
<i>C. elegans</i>	Не сохраняется Not saved	F52B10.2	137	ISDYTQSSSKRKRVLMPMS
<i>X. tropicalis</i>	Идентичные Identical	ENSXETG00000007214	188	-----TLSKTPSLPSFQALAFK

Примечание. \* – вид живого организма, геном которого использовали для анализа консервативности исследуемой позиции белка (при этом Human – последовательность не мутированного белка у *Homo sapiens*, mutated – отображает исследуемую мутацию у *Homo sapiens*). \*\* – идентификация гена, позиция – номер позиции в представленном гене.

Note. \*, species of the living organism whose genome was used to analyze the conserved position of the protein under study (Human – sequence of non-mutated protein in *Homo sapiens*, mutated – reflects the studied mutation in *Homo sapiens*). \*\*, gene identification, position – position's number in the presented gene.

жет изменять функцию белка за счет влияния на взаимодействие доменов. Только мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A, p.P199L локализована в высококонсервативном регионе, за счет чего может стать причиной изменения конформации и повреждения белка, а также нарушения взаимодействия с другими молекулами или другими частями белка.

#### Оценка влияния точечных мутаций на стабильность белка

Согласно анализу влияния мутаций с использованием веб-приложений MUpro и I-Mutant Suite, все обнаруженные аминокислотные замены приводят к снижению стабильности белка, при этом значимое снижение показано для миссенс-мутаций NC\_000016.9:g.1962046C>T и NC\_000016.9:g.1962024G>A (табл. 5).

ТАБЛИЦА 5. ПРОГНОЗ СТАБИЛЬНОСТИ БЕЛКА ПРИ ВЫЯВЛЕННЫХ МИССЕНС-МУТАЦИЯХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЕБ-РЕСУРСОВ MUpro И I-Mutant Suite

TABLE 5. PREDICTION OF PROTEIN STABILITY FOR IDENTIFIED MISSENSE MUTATIONS USING THE MUpro AND I-Mutant Suite WEB RESOURCES

Ресурс Resource	Показатели Indicators	Миссенс-мутации Missense-mutations			
		NC_000016.9:g. 1962132G>A (p.A163V)	NC_000016.9:g. 1961674G>C (p.L316V)	NC_000016.9:g. 1962046C>T (p.A192T)	NC_000016.9:g. 1962024G>A (p.P199L)
MUpro	ΔΔG	-0,28	-0,91	-1,29	-1,10
I-Mutant Suite	DDG	-0,03	-1,48	-0,62	-1,27
	RI	7	6	6	8

**ТАБЛИЦА 6. ПРОГНОЗ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИССЕНС-МУТАЦИЙ ПО ДАННЫМ ВЕБ-РЕСУРСОВ I-Mutant Disease, PolyPhen-2, MutationTaster2021**

TABLE 6. PREDICTION OF MISSENSE-MUTATIONS PATHOGENETIC SIGNIFICANCE ACCORDING TO I-Mutant Disease, PolyPhen-2, AND MutationTaster2021

Веб-ресурс Web resource	Показатели Indicators	Миссенс-мутации Missense-mutations			
		NC_000016.9: g.1962132G>A (p.A163V)	NC_000016.9: g.1961674G>C (p.L316V)	NC_000016.9: g.1962046C>T (p.A192T)	NC_000016.9: g.1962024G>A (p.P199L)
I-Mutant Disease	Статус Status	Патогенетически значимая Pathogenetically significant	Нейтральная Neutral	Нейтральная Neutral	Патогенетически значимая Pathogenetically significant
	RI	0	7	1	2
PolyPhen-2	Статус Status	Нейтральная Neutral	Нейтральная Neutral	Нейтральная Neutral	Патогенетически значимая Pathogenetically significant
	HumVar	0,286	0,000	0,017	0,378
	HumDiv	0,438	0,000	0,085	0,920
Mutation-Taster2021	Статус Status	Нейтральная Neutral	Нейтральная Neutral	Нейтральная Neutral	Патогенетически значимая Pathogenetically significant
	Оценка Score	64	32	58	98
PROVEAN	Статус Status	Патогенетически значимая Pathogenetically significant	Нейтральная Neutral	Нейтральная Neutral	Патогенетически значимая Pathogenetically significant
	Оценка Score	-3,543	2,405	3,674	-9,618

#### Оценка патогенетической значимости точечных мутаций

По результатам анализа с использованием всех четырех веб-ресурсов только миссенс-мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A была определена как патогенетически значимая.

При использовании веб-ресурса I-Mutant Disease показано, что мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A и NC\_000016.9:g.1962024G>A могут стать причиной развития НАО. Однако, согласно результатам анализа с помощью PolyPhen-2, патогенетически значимой является только миссенс-мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A. По данным PROVEAN, заболевание могут вызвать миссенс-мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A и NC\_000016.9:g.1962024G>A. В то же время, по прогнозам MutationTaster2021 аминокислотные замены NC\_000016.9:g.1961674G>C, NC\_000016.9:g.1962046C>T и NC\_000016.9:g.1962024G>A

не имеют патогенетического характера. Данные анализа патогенетической значимости мутаций с использованием четырех веб-ресурсов представлены в таблице 6.

#### Оценка тканевой специфичности экспрессии HS3ST6

При анализе тканевой специфичности РНК HS3ST6 с использованием ProteinAtlas наибольшая выраженность экспрессии белка показана в коже, пищевом тракте, тканях женской половой системы. Данные об экспрессии РНК исследуемого гена представлены на рисунке 1.

Визуализация третичной структуры белка HS3ST6 с помощью ресурса PyMol, а также данные базы UniProt позволили определить, какие именно отделы белка затрагивают обнаруженные мутации. Данные визуализации  $\alpha$  и  $\beta$ -спиралей представлены на рисунке 2.

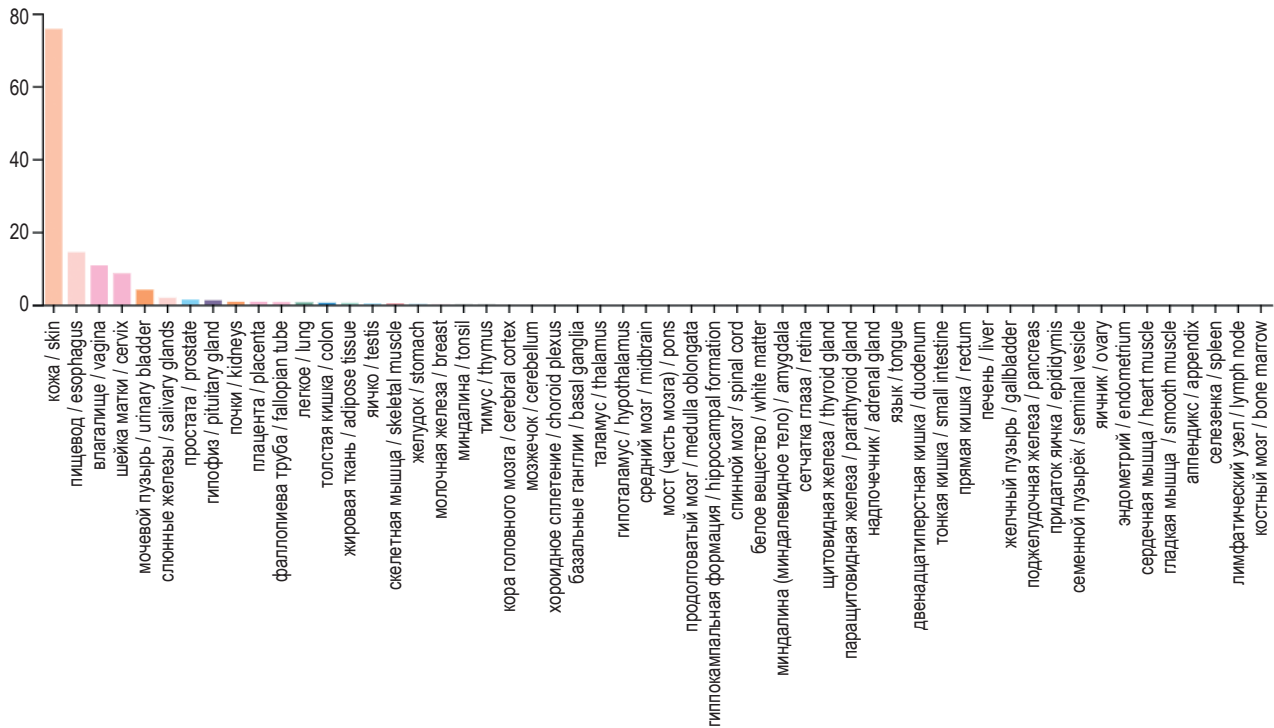


Рисунок 1. Консенсусный набор данных тканевой специфичности РНК для белка HS3ST6 по данным ProteinAtlas

Figure 1. Consensus RNA tissue specificity dataset for the HS3ST6 protein from ProteinAtlas

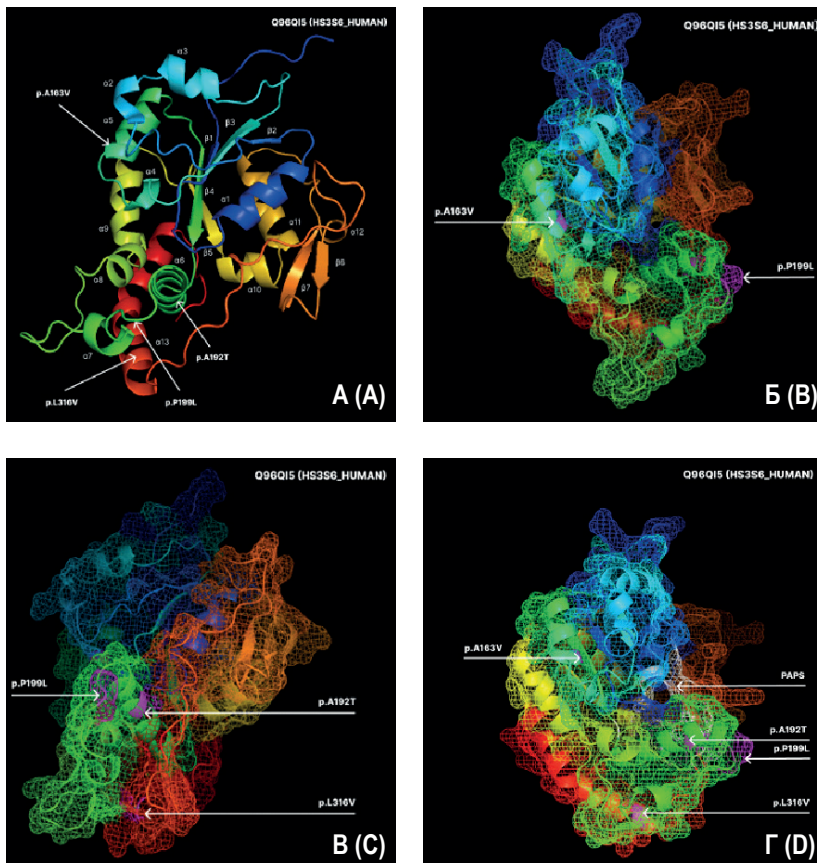


Рисунок 2. Визуализация третичной структуры белка HS3ST6 с помощью ресурса PyMol

Примечание. А – третичная структура белка Q96QI5 (HS3S6\_HUMAN), указаны точки локализации выявленных мутаций. Б – локализация потенциально патогенетически значимых миссенс-мутаций p.A163V и p.P199L. В – локализация условно нейтральных миссенс-мутаций p.A192T и p.L316V. Г – локализация выявленных мутаций и PAPS в белке HS3S6.

Figure 2. Visualization of the tertiary structure of the HS3ST6 protein using PyMol

Note. (A) Tertiary structure of protein Q96QI5 (HS3S6\_HUMAN), localization points of identified mutations are indicated. (B) Localization of potentially pathogenetically significant missense mutations p.A163V and p.P199L. (C) Localization of conditionally neutral missense mutations p.A192T and p.L316V. (D) Localization of identified mutations and PAPS in the HS3S6 protein.

Согласно полученным результатам (база данных UniProt, <https://www.uniprot.org/>), для белка HS3ST6 характерны несколько неупорядоченных регионов (1-21, 55-85 аминокислотные позиции) и регионов, отвечающих за связывание с субстратом (122-128, 153-156 и 220-221 позиции). Кроме того, аминокислотные позиции 100-104, 181 и 189 взаимодействуют с 3'-фосфо-5'-аденилсульфатом (PAPS) и играют важную роль в физиологически нормальном функционировании белка. По результатам MutationTaster2021, еще один участок PAPS показан в позициях 305-309 (табл. 3).

## Обсуждение

Наследственный ангиоотек характеризуется повторяющимися эпизодами отека тканей конечностей, лица, кишечного тракта или дыхательных путей за счет скопления жидкости вне кровеносных сосудов, что, как правило, связано с повышением уровня брадикинина в результате сложного биохимического каскада. В частности, во время приступов вазоактивный пептидный гормон брадикинин расщепляется из своего предшественника, высокомолекулярного кининогена (HMWK), плазменным калликреином и активирует рецептор брадикинина B2 на поверхности эндотелиальных клеток. В дальнейшем высвобождение брадикинина приводит к вазодилатации сосудов и повышенной проницаемостью стенок сосудов, приводящих к отеку мягких тканей. Однако, наряду с уже известными механизмами реализации брадикинина при НАО, когда задействованы белки SERPING1, F12, PLG, ANGPT1, KNG1, MYOF, наименее изученным остается белок HS3ST6. Ранее было показано, что HMWK связывается с широким спектром клеток, предположительно за счет участков взаимодействия в доменах D3 (235–357 аминокислотные позиции), D5H (503–626 аминокислотные позиции), D6 (503–626 аминокислотные позиции). Домен 6 действует как связывающий домен для двух родственных белков FXI и прекалликреина плазмы, в то время как домен 5 связывается с отрицательно заряженными поверхностями, запуская последующую цепь реакций контактного пути. Однако полностью акцепторные сайты все еще не определены [28]. Среди клеток, с которыми взаимодействует HMWK, присутствуют и эндотелиальные клетки. Предполагают, что взаимодействие HMWK с данным типом клеток осуществляется путем объединения на клеточной поверхности с цитокератином 1 (D3), gC1qR (D5L) [15, 17, 18].

HMWK связывается также с хондроитинсульфатными и гепаран-сульфатными (HS) цепями клеточных протеогликанов синдекана-1 (SDC1), синдекана-2 (SDC2), синдекана-4 (SDC4) и глипикана [28], которые обеспечивает защиту HMWK от расщепления [29]. Кроме того, протеогликаны опосредуют эндоцитоз кининогена (HK) [16, 37], что может потенциально снижать реализацию брадикинина. Экспрессия белков семейства синдеканов позволяет нам предположить их существенную роль в связывании HMWK. Так, в работе, посвященной мутации в гене *HS3S6*, авторы сообщали об участии SDC2 в связывании с HMWK [9]. В физиологических условиях для связывания HMWK с SDC2 требуется нормальное функционирование гепарансульфат глюкозамин 3-О-сульфотрансферазы 6, кодируемой геном *HS3S6*. Указанная сульфотрансфераза, используя 3'-фосфо-5'-аденилсульфат (PAPS), катализирует перенос сульфогруппы на гепарансульфат (HS) синдекан-2. В результате специфического для SDC2 O-сульфатирования образуется модифицированный ферментом гепарансульфат, действующий как рецептор для связывания с HMWK на поверхности клеток. Однако, при наличии патогенетически значимых мутаций в гене *HS3S6* этап O-сульфатирования SDC2 может быть нарушен, что, в свою очередь, приведет к отекам тканей [9]. Наибольшая выраженность экспрессии РНК *HS3S6* в коже, пищеводе и тканях женской половой системы косвенно свидетельствует о возможном участии HS3S6 в развитии НАО.

Хотя по прогнозу PolyPhen-2 и MutationTaster2021 мутация NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V) нейтральна, что подтверждается данными о ее распространенности в гомозиготном и гетерозиготном состояниях, согласно базами данных 1000G и ExAC, а позиция локализации не относится к высококонсервативным, замена аланина на более гидрофобную и объемную аминокислоту валин, т. е. больший размер мутантного остатка по сравнению с остатком дикого типа, в позиции 163 одной из  $\alpha$ -цепей ( $\alpha 5$ ) белка HS3S6 рядом с высококонсервативным участком, создает вероятность появления неровностей аминокислотной последовательности и в дальнейшем неправильного формирования третичной структуры белка. Снижение стабильности белка будет при этом, вероятно, незначительно, однако мутация может косвенно затрагивать расположенные в визуальном желобе или канале HS3ST6 (рис. 2Г) участки PAPS (181, 189, 305-309 аминокислотные позиции), которые важны для

этапа О-сульфатирования [24]. Учитывая частоту встречаемости NC\_000016.9:g.1962132G>A в популяции (0,34966), расположение мутации, прогноз ее патогенетической значимости и сопутствующего изменения вторичной структуры белка, можно предположить, что мутация NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V) принимает опосредованное участие в патофизиологии НАО за счет неправильного связывания с гепарансульфатом SDC2 в области  $\alpha$ -цепей (рис. 3Б), либо в комплексе с другими, неисследованными, мутациями.

К более выраженному снижению стабильности белка способна приводить миссенс-мутация NC\_000016.9:g.1961674G>C (p.L316V) за счет замены лейцина на менее гидрофобную аминокислоту валин. Кроме того, из-за замены лейцина (объем 166.7 Å<sup>3</sup>) на валин (объем 140.0 Å<sup>3</sup>) в 316 позиции белка предположительно формируется пустое пространство, в результате чего могут наблюдаться нарушения взаимодействия с другими молекулами. Однако, находясь в одной из  $\alpha$ -цепей ( $\alpha$ 13), мутация не затрагивает консервативную область и участки PAPS. Интересно отметить, что данная мутация была обнаружена у трех пациентов. У пациентки № 1 – в гомозиготном состоянии совместно с гетерозиготной заменой NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V), взаимодействие и комбинация эффектов двух мутаций остаются неизвестными. У пациентов № 9 и № 14 мутация была представлена в гетерозиготном состоянии. Учитывая частоту встречаемости аллели в мире (0,52666), данные проведенного анализа, а также то, что NC\_000016.9:g.1962132G>A показана в соответствующем положении гомологичных последовательностей, можно предположить, что она не играет роли в патогенезе НАО.

Еще одна идентифицированная миссенс-мутация гена *HS3ST6* NC\_000016.9:g.1962046C>T (p.A192T) была обнаружена только у одного пациента (№ 3). Мутация локализована в одной из  $\alpha$ -цепей ( $\alpha$ 6), не затрагивает консервативных позиций белка, хотя и находится на расстоянии нескольких позиций от консервативной области и способна внести изменения в один из участков PAPS (305-309 аминокислотные позиции). По нашим предположениям, последнее обстоятельство может сказываться на неизвестных в настоящее время функциях белка, включающих задействование  $\alpha$ 6-цепи желобка белка (предполагаемое место фиксации гепарансульфата) [38]. Обнаруженная миссенс-мутация наблюдается в соответствующем положении в других гомоло-

гичных последовательностях, что свидетельствует о существовании большего количества белков для мутантного остатка, чем для остатка дикого типа. Несмотря на то, что замена p.A192T вносит существенные изменения в стабильность белка, сама мутация оценивается как не имеющая патогенетической значимости. Однако триптофан по размеру, объему и индексу гидропатии сильно отличается от аланина, т. е. повлечет потерю гидрофобных взаимодействий в ядре белка, что, соответственно, приводит к потере физиологических белок-белковых взаимодействий и конформаций внутри белка.

Наибольший интерес для диагностики НАО может иметь новая, ранее не описанная миссенс-мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A (p.P199L), локализованная в консервативном участке между двумя  $\alpha$ -цепями ( $\alpha$ 6 и  $\alpha$ 7). Интересно отметить, что влияние мутации на белок характеризуется только затрагиванием люменального домена без изменений сайта сплайсинга, подробные данные о влиянии на белок в программе MutationTaster2021 отсутствуют. Тем не менее данная мутация приводит к значительному снижению стабильности белка и оценивается как патогенетически значимая по прогнозам всех использованных в настоящей работе методов анализа. По нашим предположениям, мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A приводит к увеличению гибкости между двумя  $\alpha$ -цепями белка за счет замены пролина, обеспечивающего жесткую конфигурацию белка, на лейцин с изменением индекса гидропатии. Таким образом, нарушается стабильность белка рядом с центрами PAPS, что становится причиной неправильного взаимодействия с гепарансульфатом и нарушения этапа О-сульфатирования синдекана-2, который, как уже было упомянуто выше, обеспечивает связывание НМВК и его эндоцитоз. В результате свободный от связывания с SDC2 высокомолекулярный кининогенин, не подвергаясь эндоцитозу, при контакте с клеточной поверхностью будет легко взаимодействовать с gC1qR и цитокератином-1. При связывании с ними НМВК будет подвергаться повышенному расщеплению калликреином с последующим высвобождением ВК, который и приведет к появлению симптомов НАО. Крайне низкая частота встречаемости замены NC\_000016.9:g.1962024G>A в популяции (0,00194) является косвенным подтверждением патогенетической значимости данной мутации.

Авторы предполагают, что миссенс-мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V),

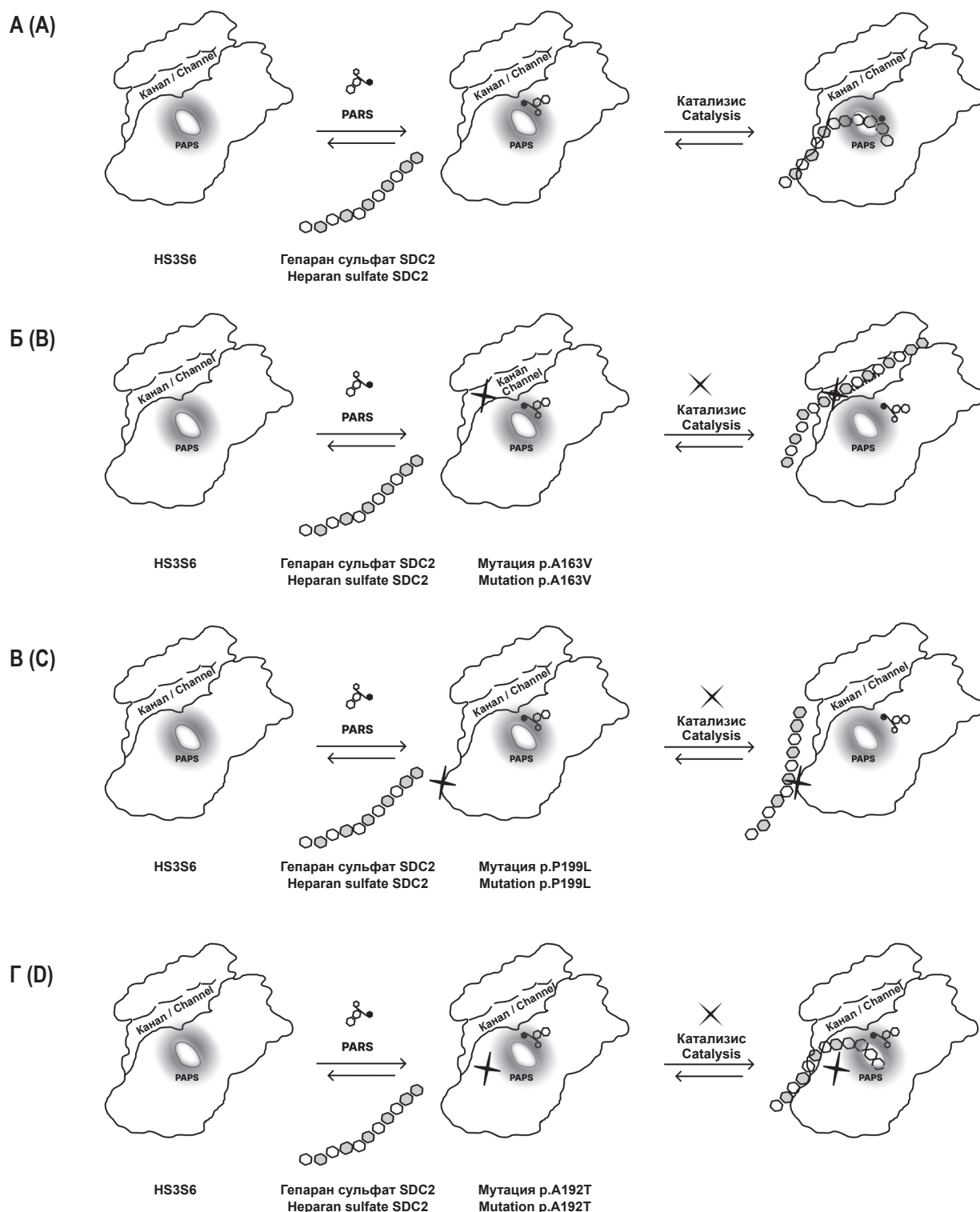


Рисунок 3. Предположительные схемы О-сульфирования гепарансульфата в белке HS3ST6

Примечание. А – этап О-сульфирования гепарансульфата посредством белка без мутаций. Б – этап О-сульфирования гепарансульфата при наличии мутации р.А163V. В – этап О-сульфирования гепарансульфата при наличии мутации р.Р199L. Г – этап О-сульфирования гепарансульфата при наличии мутации р.А192Т.

Figure 3. Presumptive schemes of heparan sulfate O-sulfation in the HS3ST6 protein

Note. (A) The O-sulfation step of heparan sulfate via a protein without mutations. (B) The O-sulfation stage of heparan sulfate in the presence of p.A163V mutation. (C) O-sulfation stage of heparan sulfate in the presence of p.P199L mutation. (D) Heparan sulfate O-sulfation stage in the presence of p.A192T mutation.



NC\_000016.9:g.1962046C>T (p.A192T) и NC\_000016.9:g.1962024G>A (p.P199L) участвуют в патогенезе НАО по различным сценариям, связанным с нарушением О-сульфирования гепарансульфата (рис. 3).

Таким образом, мы считаем, что мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V) задействована в патогенезе НАО за счет косвенного или опосредованного нарушения О-сульфирования гепарансульфата непосредственно внутри белка (рис. 3Б). Мутация NC\_000016.9:g.1962024G>A (p.P199L), по всей видимости, приводит к развитию заболевания за счет нарушения контакта или объединения с гепарансульфатом SDC2 (рис. 3В). При мутации NC\_000016.9:g.1962046C>T (p.A192T) дестабилизация 192 аминокислотной позиции рядом с PAPS, может способствовать срыву О-сульфирования гепарансульфата за счет нарушения функциональной активности белка и, соответственно, катализа переноса сульфогруппы на гепарансульфат синдекана 2 (рис. 3Г). Во всех трех случаях представляется возможным формирование патологии в связи с нарушением этапов О-сульфирования гепарансульфата синдекана 2.

## Заключение

Впервые описана миссенс-мутация NP\_NC\_000016.9:g.1962024G>A (p.P199L), которая способна вызывать клинические симптомы НАО у пациентов даже в случае гетерозиготного носительства и может оцениваться как патогенетически значимая. Миссенс-мутации NC\_000016.9:g.1962132G>A (p.A163V) и NC\_000016.9:g.1962046C>T (p.A192T) могут рассматриваться как условно патогенетически значимые у лиц с симптоматикой НАО, но требуют более глубокого исследования участия в патогенезе заболевания.

Учитывая, что методы *in silico* открывают новые возможности оценки патогенетической значимости мутаций, применение биоинформатического анализа может способствовать детальному исследованию истоков наследственного ангиоотека. В настоящей работе убедительно показано, что редкие мутации в гене *HS3ST6* могут быть задействованы в патогенезе НАО и провоцировать отеки за счет повышенного релиза брадикинина.

## Список литературы / References

1. Близнетц Е.А., Ряднинская Н.В., Галеева Н.М., Кузнецова И.А., Дмитриева А.В., Латышева Т.В., Латышева Е.А., Гусева М.Н., Поляков А.В. ДНК-диагностика наследственного ангионевротического отека и клиническое значение вариантов гена *SERPING1*. Медицинская генетика. 2018. Т. 17, № 7. С. 11-20. [Bliznetz E.A., Ryadninskaya N.V., Galeeva N.M., Kuznetsova I.A., Dmitrieva A.V., Latysheva T.V., Latysheva E.A., Guseva M.N., Polyakov A.V. DNA diagnostics of hereditary angioedema and the clinical significance of the *SERPING1* gene variants. *Meditsinskaya genetika = Medical Genetic*, 2018, Vol. 17, no. 7, pp. 11-20. (In Russ.)]
2. Гусева М.Н., Зинина Е.И., Суспицын Е.Н., Костик М.М. Наследственный ангиоотек – проблема на стыке иммунологии и аллергологии: анализ данных литературы и описание серии 34 случаев. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2021. Т. 100. № 2. С. 49-56. [Guseva M.N., Zinina E.I., Suspitsyn E.N., Kostik M.M. Hereditary angioedema – a problem at the intersection of immunology and allergology: analysis of literature data and description of a series of 34 cases. *Pediatrics. Zhurnal im. G.N. Speransky = Pediatrics. Journal n.a. G.N. Speransky*, 2021, Vol. 100, no. 2, pp. 49-57. (In Russ.)]
3. Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Кондратенко И.В., Бологов А.А., Латышева Т.В., Продоус А.П., Пампура А.Н., Ильина Н.И., Латышева Е.А., Балашов Д.Н., Костинова А.М., Пашченко О.Е., Зиновьева Н.В., Зимин С.Б., Хорева А.Л., Моисеева А.А., Кутлянцева А.Ю., Филоненко Д.А., Барычева Л.Ю., Аллагулиева С.М., Хачирова Л.С., Сибгатулина Ф.И., Тузанкина И.А., Болков М.А., Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Хайруллина Р.М., Прольгина Д.Д., Кальметьева Л.Р., Давлетбаева Г.А., Мирсаяпова И.А., Сулима Е.И., Гусева М.Н., Тоголян А.А., Миличкина А.М., Кузнецова Р.Н., Рычкова О.А., Кузьмичева К.П., Грахова М.А., Селезнева О.С., Юдина Н.Б., Орлова Е.А., Самофалова Т.В., Букина Т.В., Печкурова А.Д., Бармина Е.В., Парфенова Н.А., Исакова С.Н., Аверина Е.В., Сазонова И.В., Старикова С.Ю., Шилова Т.В., Асекретова Т.В., Супрун Р.Н., Клещенко Е.И., Лебедев В.В., Демихова Е.В., Демихов В.Г., Калинкина В.А., Тимофеева Е.В., Павлова Т.Б., Шинкарева В.М., Гуркина М.В., Щербина А.Ю., Новичкова Г.А., Румянцев А.Г. Характеристика пациентов с первичными иммунодефицитными состояниями в Российской Федерации: от рождения до старости. Педиатрия. 2019. Т. 98, № 3. С. 24–31. [Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Rodina Yu.A., Kondratenko I.V., Bologov A.A., Latysheva T.V., Prodeus A.P., Pampura A.N., Ilyina N.I., Latysheva E.A., Balashov D.N., Kostinova A.M., Pashchenko O.E., Zinovyeva N.V., Zimin S.B., Khoreva A.L., Moiseyeva A.A., Kutlyantseva A. Yu., Filonenko D.A., Barycheva L.Yu., Allagulyeva S.M., Khachirova L.S., Sibgatulina F.I., Tuzankina I.A., Bolkov M.A., Shakhova N.V., Kamaltynova E.M., Khayrullina R.M., Prolygina D.D.,

Kalmetyeva L.R., Davletbayeva G.A., Mirsayapova I.A., Sulima E.I., Guseva M.N., Totolyan A.A., Milichkina A.M., Kuznetsova R.N., Rychkova O.A., Kuzmicheva K.P., Grakhova M.A., Selezneva O.S., Yudina N.B., Orlova E.A., Samofalova T.V., Bukina T.V., Pechkurova A.D., Barmina E.V., Parfenova N.A., Isakova S.N., Averina E.V., Sazonova I.V., Starikova S.Yu., Shilova T.V., Asekretova T.V., Suprun R.N., Kleshchenko E.I., Lebedev V.V., Demikhova E.V., Demikhov V.G., Kalinkina V.A., Timofeyeva E.V., Pavlova T.B., Shinkareva V.M., Gurkina M.V., Shcherbina A.Yu., Novichkova G.A., Rumyantsev A.G. Characteristics of patients with primary immunodeficiency states in the Russian Federation: from birth to old age. *Pediatrics. Zhurnal im. G.N. Speransky = Pediatrics. Journal n.a. G.N. Speransky*, 2019, Vol. 98, no. 3, pp. 24–31. (In Russ.)

4. Мухина А.А., Кузьменко Н.Б., Родина Ю.А., Хорева А.Л., Моисеева А.А., Швец О.А., Кондратенко И.В., Латышева Т.В., Латышева Е.А., Костинова А.М., Пащенко О.Е., Пампура А.Н., Зиновьева Н.В., Зимин С.Б., Ильина Н.И., Бологов А.А., Продеус А.П., Балашов Д.Н., Фомина Д.С., Деордиева Е.А., Кутлянцева А.Ю., Вахлярская С.С., Барычева Л.Ю., Кубанова Л.Т., Хачирова Л.С., Сибгатулина Ф.И., Тузанкина И.А., Болков М.А., Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Хайруллина Р.М., Кальметьева Л.Р., Пролыгина Д.Д., Давлетбаева Г.А., Мирсаяпова И.А., Сулима Е.И., Гусева М.Н., Тотолян А.А., Миличкина А.М., Кузнецова Р.Н., Рычкова О.А., Кузьмичева К.П., Грахова М.А., Селезнева О.С., Юдина Н.Б., Орлова Е.А., Самофалова Т.В., Букина Т.В., Мигачева Н.Б., Жестков А.В., Бармина Е.В., Парфенова Н.А., Исакова С.Н., Аверина Е.В., Сазонова И.В., Старикова С.Ю., Шилова Т.В., Асекретова Т.В., Супрун Р.Н., Клещенко Е.И., Лебедев В.В., Демихова Е.В., Демихов В.Г., Калинин В.А., Тимофеева Е.В., Ермакова А.С., Павлова Т.Б., Шинкарева В.М., Горенькова А.В., Дурягина С.Н., Смолева И.В., Александрова Т.П., Бамбаева З.В., Филиппова М.А., Грачева Е.М., Цывкина Г.И., Ефременков Е.В., Машковская Д.В., Яровая И.В., Алексеенко В.А., Фисюн И.В., Молокова Г.В., Троицкая Е.В., Гольцман Е.А., Пяткина Л.И., Власова Е.В., Уханова О.П., Чернышова Е.Г., Васильева М.М., Лаба О.М., Володина Е.В., Ипатова М.Г., Воронин К.А., Гуркина М.В., Щербина А.Ю., Новичкова Г.А., Румянцев А.Г. Эпидемиология первичных иммунодефицитов в Российской Федерации. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2020. Т. 99, № 2. С. 16–32. [Mukhina A.A., Kuzmenko N.B., Rodina Yu.A., Khoreva A.L., Moiseeva A.A., Shvets O.A., Kondratenko I.V., Latysheva T.V., Latysheva E.A., Kostinova A.M., Pashchenko O.E., Pampura A.N., Zinovieva N.V., Zimin S.B., Ilyina N.I., Bologov A.A., Prodeus A.P., Balashov D.N., Fomina D.S., Deordieva E.A., Kutlyantseva A.Yu., Vakhlyarskaya S.S., Barycheva L.Yu., Kubanova L.T., Khachirova L.S., Sibgatulina F.I., Tuzankina I.A., Bolkov M.A., Shakhova N.V., Kamaltynova E.M., Khayrullina R.M., Kalmetyeva L.R., Prolygina D.D., Davletbaeva G.A., Mirsayapova I.A., Sulima E.I., Guseva M.N., Totolyan A.A., Milichkina A.M., Kuznetsova R.N., Rychkova O.A., Kuzmicheva K.P., Grakhova M.A., Selezneva O.S., Yudina N.B., Orlova E.A., Samofalova T.V., Bukina T.V., Migacheva N.B., Zhestkov A.V., Barmina E.V., Parfenova N.A., Isakova S.N., Averina E.V., Sazonova I.V., Starikova S.Yu., Shilova T.V., Asekretova T.V., Suprun R.N., Kleshchenko E.I., Lebedev V.V., Demikhova E.V., Demikhov V.G., Kalinkina V.A., Timofeeva E.V., Ermakova A.S., Pavlova T.B., Shinkareva A.V., Gorenkova A.V., Duryagina S.N., Smoleva I.V., Alexandrova T.P., Bambaeva Z.V., Filippova M.A., Gracheva E.M., Tsyvkina G.I., Efremenkov E.V., Mashkovskaya D.V., Yarovaya I.V., Alekseenko V.A., Fisyun I.V., Molokova G.V., Troitskaya E.V., Goltsman E.A., Pyatkina L.I., Vlasova E.V., Ukhanova O.P., Chernyshova E.G., Vasilyeva M.M., Laba O.M., Volodina E.V., Ipatova M.G., Voronin K.A., Gurkina M.V., Shcherbina A.Yu., Novichkova G.A., Rumyantsev A.G. Epidemiology of primary immunodeficiencies in the Russian Federation. *Pediatrics. Zhurnal im. G.N. Speransky = Pediatrics. Journal n.a. G.N. Speransky*, 2020, Vol. 99, no. 2, pp. 16–32. (In Russ.)]

5. Печникова Н.А., Останкова Ю.В., Тотолян Арег А. Применение биоинформатического анализа для выявления генов-кандидатов, ассоциированных с наследственным ангиоотечком. *Медицинская иммунология*. 2022. Т. 24, № 5. С. 1027–1046. [Pechnikova N.A., Ostantkova Yu.V., Totolian Areg A. Applying bioinformatic analysis for prognostic assessment of the HS3ST6 missense mutations clinical significance in the development of hereditary angioedema. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology*, 2022, Vol. 24, no. 5, pp. 1027–1046. (In Russ.)]

6. Awan F.M., Obaid A., Ikram A., Janjua H.A. Mutation-structure-function relationship based integrated strategy reveals the potential impact of deleterious missense mutations in autophagy related proteins on Hepatocellular Carcinoma (HCC): A comprehensive informatics approach. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, Vol. 18, no. 1, 139. doi: 10.3390/ijms18010139.

7. Bork K., Brehler R., Witzke G., Boor S., Heineke W., Hardt J. Blindness, tetraspasticity, and other signs of irreversible brain damage in hereditary angioedema. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2017, Vol. 118, no. 4, pp. 520–521.

8. Bork K., Siedlecki K., Bosch S., Schopf R.E., Kreuz W. Asphyxiation by laryngeal edema in patients with hereditary angioedema. *Mayo Clin. Proc.*, 2000, Vol. 75, no. 4, pp. 349–354.

9. Bork K., Wulff K., Möhl B.S., Steinmüller-Magin L., Witzke G., Hardt J., Meinke P. Novel hereditary angioedema linked with a heparan sulfate 3-O-sulfotransferase 6 gene mutation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 148, no. 4, pp. 1041–1048.

10. Bork K., Wulff K., Witzke G., Hardt J. Hereditary angioedema with normal C1-INH with versus without specific F12 gene mutations. *Allergy*, 2015, Vol. 70, no. 8, pp. 1004–1012.

11. Busse P.J., Christiansen S.C. Hereditary angioedema. *N. Engl. J. Med.*, 2020, Vol. 382, pp. 1136-1148.
12. Depetri F., Tedeschi A., Cugno M. Angioedema and emergency medicine: From pathophysiology to diagnosis and treatment. *Eur. J. Intern. Med.*, 2019, Vol. 59, pp. 8-13.
13. Ercetin E., Richtmann S., Delgado B.M., Gomez-Mariano G., Wrenger S., Korenbaum E., Liu B., DeLuca D., Kühnel M.P., Jonigk D., Yuskaeva K., Warth A., Muley T., Winter H., Meister M., Welte T., Janciauskiene S., Schneider M.A. Clinical significance of SERPINA1 gene and its encoded alpha1-antitrypsin protein in NSCLC. *Cancers (Basel)*, 2019, Vol. 11, no. 9, 1306. doi:10.3390/cancers11091306.
14. Faisant C., Du Thanh A., Mansard C., Deroux A., Boccon-Gibod I., Bouillet L. Idiopathic Non-histaminergic Angioedema: Successful Treatment with Omalizumab in Five Patients. *J. Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 37, no. 1, pp. 80-84.
15. Hasan A.A., Cines D.B., Herwald H., Schmaier A.H., Muller-Esterl W. Mapping the cell binding site on high molecular weight kininogen domain 5. *J. Biol. Chem.*, 1995, Vol. 270, pp. 19256-19261.
16. Henderson L.M., Figueroa C.D., Muller-Esterl W., Bhoola K.D. Assembly of contact-phase factors on the surface of the human neutrophil membrane. *Blood*, 1994, Vol. 84, no. 2, pp. 474-482.
17. Kaplan A.P., Joseph K. Pathogenic mechanisms of bradykinin mediated diseases: dysregulation of an innate inflammatory pathway. *Adv. Immunol.*, 2014, Vol. 121, pp. 41-89.
18. Kaplan A.P., Joseph K. The bradykinin-forming cascade and its role in hereditary angioedema. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2010, Vol. 104, pp. 193-204.
19. Kyte J., Doolittle R.F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.*, 1982, Vol. 157, no. 1, pp. 105-132.
20. Maurer M., Grattan C.E.H., Zuraw B.L. Urticaria and angioedema without wheals. *Allergy (Fourth Edition)*, 2012, pp. 247-261.
21. Maurer M., Magerl M., Ansoategui I., Aygören-Pürsün E., Betschel S., Bork K., Bowen T., Balle Boysen H., Farkas H., Grumach A.S., Hide M., Katelaris C., Lockey R., Longhurst H., Lumry W.R., Martinez-Saguer I., Moldovan D., Nast A., Pawankar R., Potter P., Riedl M., Ritchie B., Rosenwasser L., Sánchez-Borges M., Zhi Y., Zuraw B., Craig T. The international WAO/EAACI guideline for the management of hereditary angioedema-The 2017 revision and update. *Allergy*, 2018, Vol. 73, no. 8, pp. 1575-1596.
22. Minafra F.G., Gonçalves T.R., Alves T.M., Pinto J.A. The mortality from hereditary angioedema worldwide: a review of the real-world data literature. *Clin. Rev. Allerg. Immunol.*, 2021, Vol. 62, pp. 232-239.
23. Motta G., Tersariol I.L.S. Modulation of the plasma kallikrein-kinin system proteins performed by heparan sulfate proteoglycans. *Front. Physiol.*, 2017, Vol. 8, 481. doi: 10.3389/fphys.2017.00481.
24. Muñoz E., Xu D., Kemp M., Zhang F., Liu J., Linhardt R.J. Affinity, kinetic, and structural study of the interaction of 3-O-sulfotransferase isoform 1 with heparan sulfate. *Biochemistry*, 2006, Vol. 45, no. 16, pp. 5122-5128.
25. Pac M., Bernatowska E. Comprehensive activities to increase recognition of primary immunodeficiency and access to immunoglobulin replacement therapy in Poland. *Eur. J. Pediatr.*, 2016, Vol. 175, no. 8, pp.1099-1105.
26. Papadopoulou-Alataki E. Upper airway considerations in hereditary angioedema. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 1, pp. 20-25.
27. Pommié C., Levadoux S., Sabatier R., Lefranc G., Lefranc M.P. IMGT standardized criteria for statistical analysis of immunoglobulin V-REGION amino acid properties. *J. Mol. Recognit.*, 2004, Vol. 17, no. 1, pp. 17-32.
28. Renné T., Dedio J., David G., Müller-Esterl W. High molecular weight kininogen utilizes heparan sulfate proteoglycans for accumulation on endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, 2000, Vol. 275, no. 43, pp. 33688-33696.
29. Renne T., Schuh K., Muller-Esterl W. Local bradykinin formation is controlled by glycosaminoglycans. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 175, pp. 3377-3385.
30. Saih A., Baba H., Bouqdayr M., Ghazal H., Hamdi S., Kettani A., Wakrim L. In silico analysis of high-risk missense variants in human ACE2 gene and susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Biomed Res. Int.*, 2021, Vol. 2021, 6685840. doi: 10.1155/2021/6685840.
31. Sambrook J., Russell D. W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *Cold Spring Harb. CSH Protoc.*, 2006, Vol. 1, *pdb.prot4455*. doi: 10.1101/pdb.prot4455.
32. Santacroce R., D'Andrea G., Maffione A.B., Margaglione M., d'Apolito M. The genetics of hereditary angioedema: A review. *J. Clin. Med.*, 2021. Vol. 10, no. 9, 2023. doi: 10.3390/jcm10092023.
33. Singh S., Sharma S., Baranwal M. Identification of SNPs in hMSH3/MSH6 interaction domain affecting the structure and function of MSH2 protein. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2021. doi: 10.1002/bab.2295.
34. Staller K., Lembo A., Banerji A., Bernstein J.A., Shah E.D., Riedl M.A. Consider Hereditary Angioedema in the Differential Diagnosis for Unexplained Recurring Abdominal Pain. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2022. doi: 10.1097/MCG.0000000000001744.
35. Steinhaus R., Proft S., Schuelke M., Cooper D.N., Schwarz J.M., Seelow D. MutationTaster2021. *Nucleic Acids Research.*, 2021, Vol. 49, no. W1, pp. W446-W451.
36. Spiess B.D., Armour S., Horrow J., Kaplan J.A., Koch C.G., Karkouti K., Body S.C. Transfusion medicine and coagulation disorders. Kaplan's essentials of cardiac anesthesia. Ed. Kaplan J.A., 2018, pp. 685-714.

37. Wang Z., Huang C., Lv H., Zhang M., Li X. In silico analysis and high-risk pathogenic phenotype predictions of non-synonymous single nucleotide polymorphisms in human Crystallin beta A4 gene associated with congenital cataract. *PLoS One*, 2020, Vol. 15, no. 1, e0227859. doi:10.1371/journal.pone.0227859.

38. Wells M.J., Hatton M.W., Hewlett B., Podor T.J., Sheffield W.P., Blajchman M.A. Cytokeratin 18 is expressed on the hepatocyte plasma membrane surface and interacts with thrombin-antithrombin complexes. *J. Biol. Chem.*, 1997, Vol. 272, no. 45, pp. 28574-28581.

39. Xu D., Tiwari V., Xia G., Clement C., Shukla D., Liu J. Characterization of heparan sulphate 3-O-sulphotransferase isoform 6 and its role in assisting the entry of herpes simplex virus type 1. *Biochem. J.*, 2005, Vol. 385, Pt 2, pp. 451-459.

---

**Авторы:**

**Печникова Н.А.** — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

**Останкова Ю.В.** — к.б.н., заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

**Сайтгалина М.А.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

**Беляков А.М.** — лаборант-исследователь лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

**Денисова А.Р.** — к.м.н., ассистент кафедры детских болезней, Клинический институт детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет); ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского института педиатрии и охраны здоровья детей Научно-клинического центра № 2 ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Подчерняева Н.С.** — д.м.н., профессор кафедры детских болезней, Клинический институт детского здоровья имени Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

**Тотolian Арег А.** — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

---

**Authors:**

**Pechnikova N.A.**, Junior Research Associate, Laboratory of Immunology and Virology HIV, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Ostankova Yu.V.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Immunology and Virology HIV, Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Saitgalina M. A.**, Junior Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Bebyakov A.M.**, Laboratory Assistant, Laboratory of Immunology and Virology HIV, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Denisova A.R.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Children's Diseases, N. Filatov Clinical Institute of Children's Health, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Leading Research Associate, Research Institute of Pediatrics and Children's Health, Scientific and Clinical Center No. 2, B. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

**Podchernyaeva N.S.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Children's Diseases, N. Filatov Clinical Institute of Children's Health, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

**Totolian Areg A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Molecular Immunology, Director, Saint Petersburg Pasteur Institute; Head, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 01.09.2022

Принята к печати 16.10.2022

Дата онлайн-публикации 18.11.2022

---

Received 01.09.2022

Accepted 16.10.2022

Date of publication online 18.11.2022