

# Резолюция Совета экспертов по совершенствованию подходов к лабораторной диагностике дефицита лизосомной кислой липазы в России

## *Resolution of the Council of Experts on improving approaches to laboratory diagnosis of lysosomal acid lipase deficiency in Russia*

20 декабря 2019 г. в Москве состоялся Совет экспертов, в ходе которого ведущие специалисты обсудили текущие достижения и ответили на ряд нерешенных вопросов лабораторной диагностики дефицита лизосомной кислой липазы (ДЛКЛ) с целью дальнейшего ее совершенствования в рамках клинической лабораторной практики в России.

В совещании приняли участие ведущие специалисты в области лабораторной диагностики ДЛКЛ: Байдакова Г.В., Бржозовская Е.А., Воронина Е.Н., Глотов О.С., Захарова Е.Ю., Каменец Е.А., Киселев А.В., Маянский Н.А., Пушкин А.А., Строкова Т.В., Федяков М.А., Филипенко М.Л. Список и места работы экспертов приведены в конце резолюции.

В ходе Совета экспертов были рассмотрены следующие аспекты совершенствования подходов к лабораторной диагностике ДЛКЛ:

- вопросы контроля качества лабораторных исследований ДЛКЛ и возможности организации централизованного контроля качества;
- обсуждение новых возможностей в диагностике ДЛКЛ. Актуальность альтернативных методов измерения активности лизосомной кислой липазы (ЛКЛ);
- определение потенциальных дополнительных биохимических маркеров для оценки эффективности результатов терапии пациентов с ДЛКЛ;
- создание рабочей группы экспертов по изучению ДЛКЛ.

ДЛКЛ — прогрессирующее наследственное заболевание, характеризующееся нарушением метаболизма липидов, ассоциированное с полиорганной недостаточностью и высокой летальностью. По возрасту дебюта выделяют две клинические формы ДЛКЛ: инфантильную форму, болезнь Вольмана, развивающуюся до 1 года, и болезнь накопления эфиров холестерина (БНЭХ). Независимо от формы клинические проявления заболевания крайне разнообразны, что сказывается на своевременности установления диагноза и приводит к ранней инвалидизации и гибели пациентов.

### **Контроль качества лабораторной диагностики ДЛКЛ**

Основным методом подтверждения диагноза ДЛКЛ является измерение активности фермента ЛКЛ в сухих пятнах крови (СПК) методом, описанным J. Hamilton. Активность ЛКЛ измеряется с использованием флуорогенного субстрата 4-метилумбеллиферил пальмитата (4MU-Pal) в присутствии кардиолипина (Cardiolipin) в качестве активатора ЛКЛ. Однако у этого метода существует ряд ограничений, прежде всего необходимость проведения реакций в дублях, возможные неспецифические результаты реакции, отсутствие строгих отрезных точек и т.д. Все эти ограничения снижают эффективность метода и увеличивают вероятность общих аналитических ошибок, требуя постоянного поддержания стабильности и «калибровки» аналитической системы. Внутренняя валидация и контроль качества лабораторной диагностики ДЛКЛ проводятся лабораториями самостоятельно и систематически. Вместе с тем, внешний контроль качества лабораторной диагностики ДЛКЛ, направленный на выявление систематических ошибок метода измерения активности ЛКЛ и обеспечение единства измерений, на территории РФ пока не внедрен.

В результате обсуждения данного аспекта совершенствования лабораторной диагностики ДЛКЛ эксперты пришли к мнению о необходимости организации постоянного внешнего контроля качества для всех лабораторий в РФ, выполняющих анализ активности ЛКЛ. Были определены периодичность и назначены ответственные лица. Внешний контроль качества будет проводиться 6 раз в год с использованием «заслепленных» образцов. Участвующие во внешнем контроле качества лаборатории должны будут определить для каждого контрольного образца (1) абсолютное значение активности ЛКЛ, (2) процент от средней нормальной активности ЛКЛ в измеряемом образце и (3) качественный показатель — отсутствие или наличие снижения активности ЛКЛ, достаточного для констатации ДЛКЛ.

Ответственной за сбор, подготовку и отправку контрольных образцов в лаборатории для проведения внешнего контроля качества группой экспертов решено назначить сотрудника лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Байдакову Галину Викторовну.

### **Обсуждение новых возможностей в диагностике ДЛКЛ**

В рамках обсуждения актуальности альтернативных методов диагностики ДЛКЛ была представлена модификация измерения активности ЛКЛ. В новой методике определения активности ЛКЛ предлагается отказаться от использования *Lalstat 2* и перейти к оценке с точки зрения динамических показателей. В оригинальном исследовании активность ЛКЛ определяется как разница между двумя значениями активности в параллельных реакциях в присутствии ингибитора и без него, в связи с чем возрастает вероятность ошибки измерений, а, следовательно, неоднозначных и некорректных результатов. Если же измерять показатели в динамике, вероятность получения неоднозначных результатов можно свести к минимуму. Кроме того, в оригинальном методе *Hamilton* довольно сложна интерпретация итоговых результатов и отсутствуют строгие отрезные точки, в связи с чем вероятность ошибки также повышается. Ранее *Masi* с соавт. уже удалось эффективно модифицировать метод *Hamilton* за счёт отсутствия параллельных измерений, однако предлагаемый новый метод оценки активности ЛКЛ позволяет проводить все операции гораздо быстрее. Кроме того, для него требуется меньше реагентов, в связи с чем он может быть экономически выгодным. Измерения, проводимые в динамике, и простота интерпретации результатов позволят существенно снизить вероятность ошибки.

Также в ходе обсуждения было продемонстрировано, что первичными альтернативными маркерами ДЛКЛ при снижении активности ЛКЛ ниже референсных значений при иных заболеваниях или при получении неоднозначных результатов измерения активности ЛКЛ («серая зона») могут выступать оксистеролы (С-триол и 7-КС). Был показан высокий уровень специфичности и чувствительности данных маркеров для скрининга и постановки диагноза.

Эксперты оценили перспективность поиска альтернативных методов лабораторной диагностики ДЛКЛ, в том числе и новой модификации метода. В ходе обсуждения экспертами было принято решение

о продолжении изучения данного аспекта, в том числе об испытаниях нового метода и альтернативных маркеров в одной из лабораторий в РФ.

### **Определение потенциальных дополнительных биохимических маркеров для оценки эффективности результатов терапии пациентов с ДЛКЛ**

Одним из наиболее актуальных вопросов ферментзаместительной терапии ДЛКЛ является вопрос альтернативных биохимических маркеров для оценки ее эффективности. Актуальность этой проблемы подтверждают факт низкой диагностической и прогностической значимости традиционных маркеров повреждения печени и показателей липидного профиля, а также зависимость характера и степени выраженности патологических процессов от наличия тех или иных вариантов в гене *LIPA*.

Была представлена работа по поиску альтернативных биохимических показателей для мониторинга пациентов в процессе ферментзаместительной терапии. При сопоставлении клинических и лабораторных данных, результатов анализа активности хитотриозидазы и концентраций оксистеролов в крови больных подтверждено наличие гено-фенотипических корреляций внутри группы пациентов с БНЭХ. Выявлены различия в биохимическом профиле гомо- и гетерозиготных носителей варианта *c.894G>A*. Показана однозначная тенденция к снижению концентрации оксистеролов на фоне ферментзаместительной терапии ДЛКЛ.

Эксперты подтвердили значимость и установили безальтернативность использования данных биохимических маркеров, а также предложили их использование для мониторинга эффективности ферментзаместительной терапии у пациентов с ДЛКЛ.

### **Создание рабочей группы экспертов по изучению ДЛКЛ**

Была создана рабочая группа по изучению ДЛКЛ, включая лабораторную диагностику. В рабочую группу вошли следующие эксперты: Байдакова Г.В., Бржозовская Е.А., Воронина Е.Н., Глотов О.С., Каменец Е.А., Киселев А.В., Пушкин А.А., Строкова Т.В., Федяков М.А., Филипенко М.Л.

Руководителями рабочей группы назначены Захарова Е.Ю. и Маянский Н.А.

Эксперты:

**Байдакова Галина Викторовна** – ведущий научный сотрудник лаборатории наследственных болезней обмена веществ, Медико-генетический научный центр

им. академика Н.П. Бочкова, кандидат биологических наук, г. Москва.

**Бржозовская Екатерина Анатольевна** – научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии, Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, г. Москва.

**Воронина Елена Николаевна** – научный сотрудник лаборатории фармакогеномики, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, кандидат биологических наук, г. Новосибирск

**Глотов Олег Сергеевич** – начальник сектора клинико-генетических исследований, ГКБ№40, кандидат биологических наук, г. Санкт-Петербург

**Захарова Екатерина Юрьевна** – заведующая лабораторией наследственных болезней обмена веществ, Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, доктор медицинских наук, г. Москва.

**Каменец Елена Анатольевна** – научный сотрудник лаборатории наследственных болезней обмена веществ, Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, врач-лабораторный генетик, г. Москва.

**Киселев Антон Вячеславович** – заведующий лабораторией молекулярной генетики и геномной терапии,

НИИ Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, г., кандидат биологических наук, г. Санкт-Петербург

**Маянский Николай Андреевич** – заведующий центром лабораторной диагностики, Российская детская клиническая больница РНИМУ им. Н.И. Пирогова, доктор медицинских наук, профессор РАН, г. Москва.

**Пушков Александр Алексеевич** – ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и медицинской геномики, Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, кандидат биологических наук, г. Москва

**Строкова Татьяна Викторовна** – заведующая отделением педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии, Федеральный исследовательский центр питания и биотехнологии, доктор медицинских наук, профессор РАН, г. Москва

**Федяков Михаил Андреевич** – научный сотрудник генетической лаборатории, врач-лабораторный генетик, ГКБ№40, г. Санкт-Петербург

**Филлипенко Максим Леонидович** – заведующей лабораторией фармакогеномики, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, кандидат биологических наук, г. Новосибирск