

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(38)

2026 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в

Перечень научных изданий
Республики Беларусь
для опубликования
диссертационных исследований
по медицинской
и биологической
отраслям науки
(31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 22.06.26
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 80 экз.
Усл. печ. л. 13,5. Уч.-изд. л. 8,32.
Зак. 297.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в
КУП «Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., профессор)

Редакционная коллегия

В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н., доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент), Н.Н. Веякина (к.б.н., отв. секретарь), А.В. Воропаева (к.б.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), М.О. Досина (к.б.н., доцент), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (д.м.н., доцент), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент), А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарович (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мишура (д.м.н., профессор, зам. гл. редактора), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), И.В. Назаренко (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н., доцент), А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), Р.М. Тахауов (д.м.н., профессор), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (д.м.н., доцент)

Редакционный совет

А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Е.Л. Богдан (Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), А.А. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (д.м.н., профессор, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Корректор

Н.Н. Юрченко

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2026

№ 2(38)

2026

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Медико-биологические проблемы

К.Н. Буздалькин, Д.Б. Куликович, Н.Г. Власова, Л.Н. Эвентова, А.Н. Матарас

Автоматизация построения прогнозов доз внутреннего и внешнего облучения, накопленных после аварии на ЧАЭС 5

Н.Г. Власова, **А.М. Скрябин**

Радиационная защита населения в отдалённом периоде после аварии на Чернобыльской АЭС 12

Е.А. Полякова, О.Л. Зобикова, А.Н. Купчинская, И.С. Сакович, М.В. Белевцев, И.В. Наумчик

Клиническое значение определения маркеров TREC и KREC в сухих пятнах крови у детей с тяжёлыми инфекционными заболеваниями, осложнёнными летальным исходом 20

Клиническая медицина

А.А. Барбарович, И.В. Назаренко, Е.В. Воропаев, Н.В. Бобович, Н.В. Галиновская

Особенности взаимосвязей отделов головного мозга по данным магнитно-резонансной трактографии у пациентов с состоянием после COVID-19 26

К.С. Комиссаров, Д.Б. Нижегородова, М.В. Дмитриева, В.С. Пилотович

Сравнительная характеристика иммунологических показателей у пациентов с иммуноглобулин А нефропатией и иммуноопосредованными гломерулопатиями 35

Е.А. Короткевич, И.В. Пахомова, А.С. Романцова, Е.В. Волочник, Д.Р. Капуза, Т.И. Хевук, М.Г. Наумович, М.В. Белевцев

Перестройки гена NUP98 при неоплазиях миелоидного ростка кроветворения у детей и молодых взрослых 44

А.А. Кудря, Е.Л. Гасич, О.П. Логинова, Н.И. Шевченко

C. difficile-ассоциированная инфекция: эпидемиологическое исследование у пациентов с онкогематологическими заболеваниями 50

Medical-biological problems

K.N. Bouzdalkin, D.B. Kulikovich, N.G. Vlasova, L.N. Eventova, A.N. Mataras

Automation for forecasting of internal and external radiation doses accumulated after the Chernobyl accident

N.G. Vlasova, **A.M. Skryabin**

Radiation protection of the population in the long term after the Chernobyl accident

E.A. Polyakova, O.L. Zobikova, A.N. Kupchinskaya, I.S. Sakovich, M.V. Belevtsev, I.V. Naumchik

Clinical significance of determining trec and krec markers in dried blood spots in children with severe infectious diseases complicated by fatal outcome

Clinical medicine

A.A. Barbarovich, I.V. Nazarenko, E.V. Voropaev, N.V. Bobovich, N. V. Halinovskaya

Features of interconnection of brain regions according to magnetic resonance tractography data in patients with COVID-19 condition

K.S. Komissarov, D.B. Nizheharodava, M.V. Dmitrieva, V.S. Pilotovich

Comparative characteristics of immunological indicators in patients with immunoglobulin A nephropathy and immune-mediated glomerulopathies

E.A. Korotkevich, I.V. Pakhomava, A.S. Romanцова, A.V. Valochnik, D.R. Kapuza, T.I. Khevuk, M.G. Navumovich, M.V. Belevtsev

NUP98 rearrangements in myeloid neoplasms in pediatric and young adult patients

A.A. Kudra, E.L. Gasich, V.P. Lohinava, N.I. Shevchenko

C. difficile-associated infection: an epidemiological study in patients with oncohematological diseases

**О.П. Логинова, А.В. Воропаева, Е.Л. Гасич,
Н.И. Шевченко**

Характеристика вагинального микро-
биоценоза у пациенток с диспластиче-
скими процессами шейки матки

59

**А.В. Любушкин, Е.В. Дмитриев, Е.А. Поля-
кова, Л.И. Волкова, И.Е. Гурьянова**

Роль метода мультиплексной проба-за-
висимой лигазной реакции в диагно-
стике гемофилии А: анализ крупных
структурных перестроек гена F8

67

**О.В. Пархоменко, Э.А. Повелица, В.В. Бе-
рещенко, А.В. Величко, А.С. Князюк,
А.В. Стрельчя, А.В. Быстренков, А.В. Ма-
карчик, А.М. Шестерня, В.А. Доманцевич**

Репродуктивное мужское здоровье —
неотъемлемая составляющая демогра-
фической безопасности Республики
Беларусь

74

**Е.О. Щеглова, Е.И. Козорез, В.М. Мицура,
Т.А. Скумина, Т.М. Михед**

Этиологическая структура внеболь-
ничных пневмоний у детей

81

Обмен опытом

**А.В. Дроздов, А.В. Быстренков, Э.А. По-
велица, А.В. Стрельчя, М.Л. Каплан,
В.А. Доманцевич**

Опыт гибридного лечения инфаркта
головного мозга в острейшем периоде
инсульта

88

**Ю.А. Лызикова, Е.А. Эйныш, Е.Г. Малаева,
А.С. Князюк, И.О. Вакульчик, Л.И. Вакульчик**

Клинический случай нейрогенного
расстройства мочеиспускания в после-
родовом периоде

96

**Я.В. Мордовкина, А.О. Жарикова, Т.В. Бобр,
Г.В. Вашкевич, А.В. Жарикова**

Сохранность зрительных функций при
критическом стенозе внутренней сон-
ной артерии: роль коллатерального
кровообращения и механизмов адапта-
ции (первое сообщение)

104

**V.P. Lohinava, A.V. Voropayeva, E.L. Gasich,
N.I. Shevchenko**

Characteristics of vaginal microbioceno-
sis in patients with cervical dysplastic
processes

**A.V. Liubushkin, E.V. Dmitriev, E.A. Poly-
kova, L.I. Volkova, I.E. Guryanova**

Role of multiplex ligation-dependent
probe amplification in hemophilia A:
analysis of large F8 variants

**O.V. Parhomenko, E.A. Povelitsa, V.V. Be-
reshchenko, A.V. Velichko, A.S. Knyazyuk,
A.V. Strelchenya, A.V. Bystrenkov, A.V. Ma-
karchik, A.M. Shesternya, V.A. Domantsevich**

Male reproductive health is an integral
component of demographic security in
the Republic of Belarus

**E.O. Shcheglova, E.I. Kozorez, V.M. Mitsura,
T.A. Skumina, T.M. Mikhed**

Etiological structure of community-ac-
quired pneumonia in children

Experience exchange

**A.V. Drozdov, A.V. Bystrenkov, E.A. Povelitsa,
A.V. Strelchenya, M.L. Kaplan, V.A. Domant-
sevich**

Experience of hybrid treatment of cer-
ebral infarction in the acute phase of is-
chemic stroke

**Yu.A. Lyzikova, E.A. Eynysh, E.G. Malaeva,
A.S. Knyazyuk, I.O. Vakulchik, L.I. Vakulchik**

A clinical case of neurogenic urinary dis-
order in the postpartum period

**Ya.V. Mordovkina, A.O. Zharikova, T.V. Bobr,
G.V. Vashkevich, A.V. Zharikova**

Visual function preservation in critical
internal carotid artery stenosis: the role
of collateral circulation and adaptation
mechanisms (first report)

УДК 616.151.514-056.7-07:575.224.22
DOI: 10.58708/2074-2088.2026-2(38)-67-73

А.В. Любушкин^{1,2}, Е.В. Дмитриев¹,
Е.А. Полякова^{1,2}, Л.И. Волкова²,
И.Е. Гурьянова¹

РОЛЬ МЕТОДА МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПРОБА-ЗАВИСИМОЙ ЛИГАЗНОЙ РЕАКЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОФИЛИИ А: АНАЛИЗ КРУПНЫХ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК ГЕНА F8

¹ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии», г. Минск, Беларусь;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

Молекулярной основой гемофилии А являются аллельные варианты гена F8, среди которых крупные делеции и дупликации составляют примерно 6% случаев тяжёлой и 1,4% — лёгкой/средней форм заболевания. Современные подходы к молекулярно-генетической диагностике гемофилии А предусматривают, прежде всего, выявление инверсий интронов 22 и 1, а также секвенирование кодирующих регионов и прилегающих к ним сплайс-сайтов гена F8. Однако эти методы не всегда позволяют точно установить генетическую причину заболевания, особенно когда она обусловлена крупными структурными перестройками — делециями и дупликациями. Настоящее исследование впервые в Республике Беларусь оценивает эффективность метода мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции (MLPA) в выявлении крупных структурных нарушений гена F8. В исследование включены 6 пациентов мужского пола с гемофилией А из 5 неродственных семей и 3 женщины — их кровные родственницы (матери или сёстры), обследованные для определения статуса носительства и характера наследования. В результате проведённого исследования у всех пациентов методом MLPA выявлены крупные структурные нарушения гена F8 в гемизиготном состоянии: делеции экзона 6 и экзонов 2–6, а также дупликации экзона 13 и экзонов 2–7. У родственниц пациентов выявлены те же структурные нарушения в гетерозиготном состоянии. Полученные результаты подтверждают высокую чувствительность и клиническую значимость метода MLPA для генетической диагностики гемофилии А. Метод MLPA создаёт основу для точного медико-генетического консультирования семей с отягощённым анамнезом, прогнозирования риска передачи заболевания в последующих поколениях и профилактики осложнений проводимой терапии.

Ключевые слова: гемофилия А, ген F8, генетические нарушения, молекулярно-генетическая диагностика, MLPA-анализ, крупные делеции и дупликации

Введение

Гемофилия А — наследственное нарушение системы свёртывания крови, обусловленное дефицитом или нарушением функциональной активности фактора свёртывания крови VIII (FVIII) и наследуемое по X-сцепленному рецессивному типу. Клинически заболевание проявляется кровоизлияниями в суставы (после травмы или спонтанно), мягкие ткани и мышцы, гематурией, а также длительными кровотечениями после незначительных порезов,

оперативных вмешательств, экстракции зубов. В мировой популяции гемофилия А регистрируется примерно в 1 случае на 5 000 новорождённых мальчиков [1].

Молекулярной основой заболевания являются аллельные варианты гена F8, локализованного в регионе Xq28 [2]. Наиболее частыми нарушениями при тяжёлой гемофилии А остаются крупные инверсии: инверсия 22 интрона (IVS22), ответственная примерно за 50% случаев, и инверсия 1 интрона (IVS1), выявляемая у 2–5% па-

циентов [3]. Остальной спектр нарушений включает точечные изменения (миссенс- и нонсенс-варианты, небольшие делеции и инсерции), а также крупные структурные перестройки — делеции и дупликации различных размеров в пределах гена F8 [2]. Крупные делеции и дупликации, затрагивающие один или несколько экзонов гена F8, являются причиной развития гемофилии А примерно в 6% случаев тяжёлой и в 1,4% случаев лёгкой и средней форм заболевания [3].

Современный алгоритм молекулярно-генетической диагностики гемофилии А предусматривает поэтапный подход. Сначала проводится поиск наиболее частых генетических перестроек — IVS22 и IVS1, особенно при тяжёлой форме заболевания. Затем выполняется секвенирование кодирующих регионов и прилегающих сплайс-сайтов гена F8. Если эти методы не позволяют выявить патогенный вариант, необходимо проводить анализ вариаций числа копий (от англ. copy number variation, CNV) для детекции крупных делеций или дупликаций гена F8 [2]. Наиболее надёжным и широко применяемым методом детекции крупных делеций и дупликаций в гене F8 является метод мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции (от англ. Multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA). Метод позволяет в одном анализе количественно оценивать число копий всех 26 экзонов, что обеспечивает высокую чувствительность и специфичность диагностики, особенно в комбинации с другими методами — такими как высокопроизводительное секвенирование (от англ. next generation sequencing, NGS) и различные виды полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4].

Клиническая значимость выявления крупных делеций гена F8 определяется их чётко установленной ассоциацией с высоким риском развития ингибиторов — аллоантител к экзогенному FVIII. Такие нарушения относятся к категории нулевых вариантов, приводящих к полному отсутствию эндогенного FVIII, что существенно

повышает иммуногенность заместительной терапии концентратами FVIII и ухудшает прогноз течения заболевания. Ранняя и точная идентификация крупных делеций позволяет стратифицировать пациентов по группам риска развития ингибиторной формы и своевременно оптимизировать тактику проводимой заместительной терапии [5]. Особую актуальность приобретает диагностика таких нарушений у женщин-носителей патогенных нарушений в гене F8, у которых крупные делеции и дупликации маскируются не затронутой нарушением аллелью [4]. В связи с этим возникает потребность в применении специализированных методов для генетической диагностики подобных нарушений.

Цель исследования — оценить эффективность и диагностическую значимость метода MLPA в диагностике гемофилии А.

Материал и методы исследования

В исследование включено 6 пациентов мужского пола с клинически и лабораторно подтверждённым диагнозом гемофилии А из 5 неродственных семей, а также 3 женщины — кровные родственницы этих пациентов (матери или сёстры), обследованные для определения статуса носительства и/или характера наследования. Все пациенты находились на обследовании и лечении в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» в период с 2020-го по 2025 год. За это время точный генетический профиль заболевания у них не был установлен или оставался неverified, что и послужило основанием для проведения настоящего исследования. В зависимости от степени тяжести гемофилии А пациенты были разделены следующим образом: тяжёлая гемофилия А — 4 пациента (активность FVIII — <1%), средняя — 1 пациент (активность FVIII — 1–5%), лёгкая — 1 пациент (активность FVIII — более 5%). Возраст пациентов на момент начала исследования варьировал от 11 месяцев до 13 лет, медиана составила 3,5 года. От всех роди-

телей пациентов и/или их официальных представителей получено информированное согласие на проведение молекулярно-генетического исследования.

Коагуляционную активность FVIII определяли одностадийным клоттинговым методом на автоматическом коагулометрическом анализаторе ACL-9000 (Instrumentation Laboratory, США). Титр ингибитора к фактору VIII в единицах Bethesda (BU/ml) определяли методом M. Kasper (1968) с поправкой Nijmegen modification [6].

Всем пациентам выполнялся поиск наиболее частых генетических перестроек гена F8 — инверсий интрона 22 и 1 — с использованием стандартных методов (инвертированная и мультиплексная ПЦР), а также высокопроизводительное секвенирование кодирующих регионов и прилегающих сплайс-сайтов гена F8, как описано ранее [7].

Определение крупных делеций и дупликаций проводилось методом MLPA с использованием набора реагентов SALSA MLPA Reagent Kit EK1-FAM (MRC-Holland, Нидерланды) и SALSA MLPA Probemix P178 F8 (MRC-Holland, Нидерланды), содержащего специфические зонды для всех 26 экзонов гена F8, а также контрольные зонды для нормализации и оценки качества.

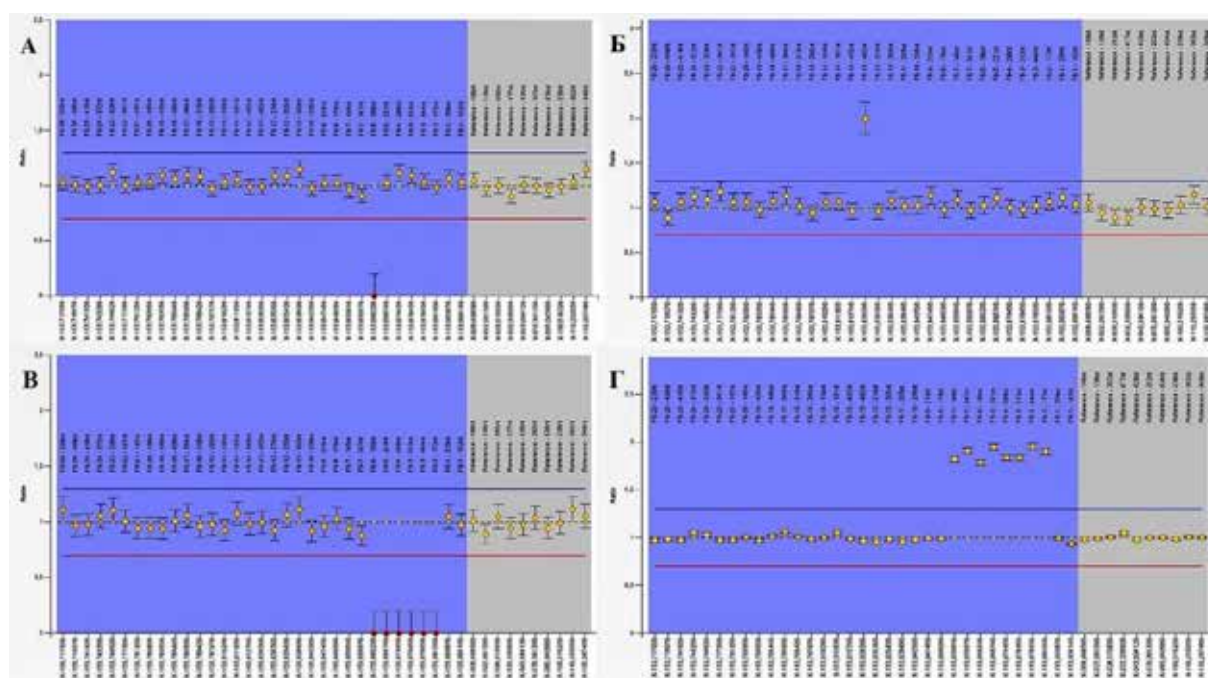
Материалом для молекулярно-генетического исследования послужила венозная кровь, стабилизированная антикоагулянтом К2ЭДТА. Геномную ДНК (гДНК) выделяли методом фенол-хлороформной экстракции из цельной суспензии лейкоцитов. гДНК в количестве 50–100 нг денатурировали при 95°C в течение 5 минут. Далее проводили гибридизацию с набором специфических MLPA-зондов при 60°C в течение 16–20 часов с последующим лигированием при 54°C в течение 15 минут и амплификации лигированных продуктов методом ПЦР с флуоресцентно-мечеными (FAM) универсальными праймерами. Детекцию полученных фрагментов осуществляли методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе 3500

Applied Biosystems (Thermo Scientific, США) с использованием внутреннего размерного стандарта GeneScan 500 ROX (Thermo Scientific, США). Анализ результатов фрагментного анализа проводили с использованием специализированных программного обеспечения Coffalyser.Net (MRC-Holland, Нидерланды).

Оценка качественных и количественных характеристик полученных результатов проводилась согласно рекомендациям к набору реагентов SALSA MLPA Probemix P178 F8 (MRC-Holland, Нидерланды). Нормализация сигналов проводилась относительно внутренних контрольных зондов и референсных образцов здоровых доноров соответствующего пола (мужчины и женщины без клинико-лабораторных проявлений гемофилии А). Относительное количество копий каждого экзона (final ratio, FR) рассчитывали как отношение нормализованного пикового значения пациента к медиане значений по группе референсных образцов. Качество анализа подтверждалось следующими критериями: стандартное отклонение каждого индивидуального зонда по всем образцам не превышало 0,10; финальное отношение (FR) каждого референсного (контрольного) зонда в образцах пациентов находилось в диапазоне 0,80–1,20. Критерии интерпретации результатов учитывали гемизиготность гена F8 у мужчин и возможную гетерозиготность у женщин-носительниц. У мужчин нормальным считалось отношение $FR=0,8–1,2$; делеция (гемизиготная потеря копий) диагностировалась при значении $FR=0$, а дупликация (гемизиготное увеличение копий) — при значении 1,65–2,25. У женщин (гетерозиготные носительницы) нормальным считалось отношение 0,8–1,2; гетерозиготная делеция (потеря одной из двух копий) диагностировалась при значении 0,4–0,65, а гетерозиготная дупликация (увеличение на одну копию) — при значении 1,30–1,65.

Результаты исследования

У всех пациентов методом MLPA выявлены CNV одного или нескольких экзонов



А — гемизиготная делеция 6 экзона; Б — гемизиготная дупликация 13 экзона; В — гемизиготная делеция 2–6 экзонов; Г — гемизиготная дупликация 2–7 экзонов

Рисунок 1 — Результаты детекции CNV в гене F8, визуализированные в программе Coffalyser.NET

гена F8 в гемизиготном состоянии. У двух пациентов с тяжёлой гемофилией А выявлена делеция 6 экзона; у одного пациента со средней тяжестью гемофилии А выявлена крупная делеция 2–6 экзонов; у пациента с лёгкой формой гемофилии А обнаружена дупликация 13 экзона. У двух пациентов (родные братья) с тяжёлой гемофилией А выявлена протяжённая дупликация

2–7 экзонов (рисунок 1, таблица), при этом, у этих пациентов ранее был обнаружен аномальный паттерн инверсии интрона 1 гена F8. Выявленный аномальный паттерн, впервые описанный нами по результатам мультиплексной ПЦР и не встречающийся ранее в литературе, не сопровождался изменениями в кодирующих регионах гена F8 по данным высокопроизводительного

Таблица — Клинико-генетические характеристики пациентов с гемофилией А

Форма гемофилии А	Базовый уровень FVIII, %	Наличие ингибиторов к FVIII	Причина проведения MLPA	Результат MLPA
Тяжёлая	0,8	Нет	Отсутствие последовательности 6 экзона по результатам NGS	делеция 6 экзона
Тяжёлая	0,95	Нет	Отсутствие последовательности 6 экзона по результатам NGS	делеция 6 экзона
Средняя	2,2	Нет	Отсутствие последовательности 2–6 экзонов по результатам NGS	делеция 2–6 экзонов
Лёгкая	6	Нет	Отсутствие выявленных вариантов по результатам NGS и анализа IVS22 и IVS1	дупликация 13 экзона
Тяжёлая	0,92	Нет	Выявленный аномальный паттерн IVS1, отсутствие выявленных вариантов по результатам NGS и анализа IVS22	дупликация 2–7 экзонов
Тяжёлая	0,56	Нет	Выявленный аномальный паттерн IVS1, отсутствие выявленных вариантов по результатам NGS и анализа IVS22	дупликация 2–7 экзонов

секвенирования [7], что послужило основанием для поиска сопутствующих крупных структурных изменений.

В ходе предварительного генетического обследования у пациентов с делециями экзона 6 и экзонов 2–6 наблюдалось отсутствие кодирующей последовательности в соответствующих экзонах. Это позволило заподозрить наличие крупных делеций, однако требовало подтверждения референсным методом.

У одного из пациентов с делецией 6 экзона структурное нарушение было изначально верифицировано анализом соответствующего участка РНК, выполненным в период, когда проведение MLPA было недоступно [7].

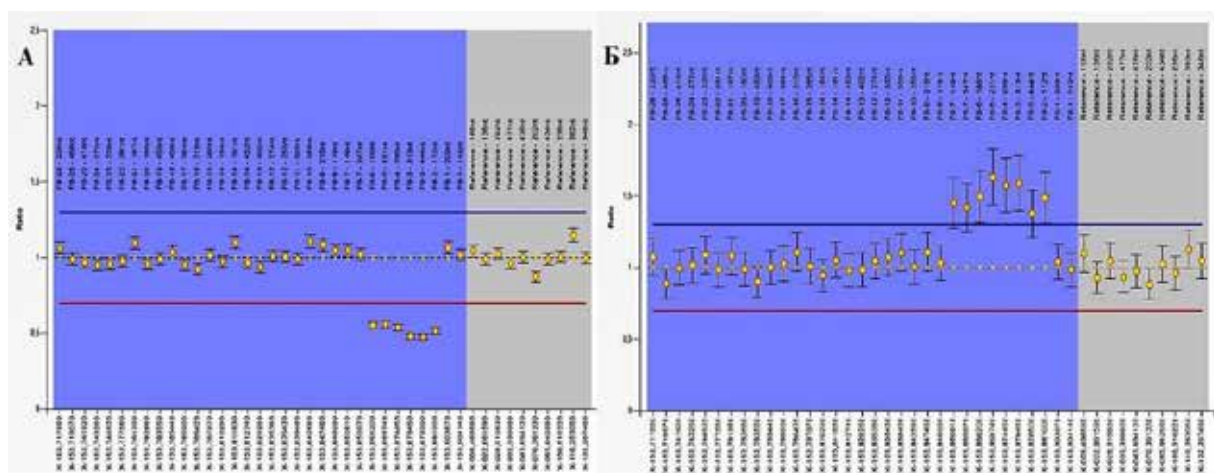
У пациента с дупликацией 13 экзона анализ IVS22 и IVS1, а также высокопроизводительное секвенирование не выявили патогенных изменений, что послужило основанием для проведения количественного анализа методом MLPA.

Для уточнения характера наследования MLPA-анализ проведён матери и сестре пациента с делецией экзонов 2–6, а также матери пациентов с аномальным паттерном инверсии интрона 1 и сопутствующей дупликацией экзонов 2–7. Во всех случаях у женщин выявлены те же структурные перестройки, но в гетерозиготном состоянии, что согласуется с X-сцепленным рецес-

сивным типом наследования гемофилии А (рисунок 2).

Полученные результаты подчёркивают высокую диагностическую эффективность метода MLPA в выявлении крупных структурных перестроек гена F8 у пациентов с гемофилией А различной степени тяжести, особенно в случаях, когда анализ инверсий и высокопроизводительное секвенирование не позволяют установить патогенетическую причину заболевания или дают неоднозначные результаты. Во всех случаях MLPA позволила точно верифицировать CNV, что обеспечило полную генетическую характеристику заболевания.

Делеции экзона 6 и экзонов 2–6 у пациентов с тяжёлой и средней формами гемофилии А соответственно относятся к известным нарушениям в гене F8. Эти изменения приводят к утрате части функционального домена A1 FVIII и объясняют выраженный клинический фенотип. Такие варианты уже неоднократно описаны в литературе и зарегистрированы в базах данных FVIII Coagulation Factor Variant Databases и CHAMP Variant List 2022 как патогенные, ассоциированные с фенотипом тяжелой и/или средней гемофилией А [4, 8, 9, 10]. Важно отметить, что у одного пациента с делецией экзона 6 нарушение было первоначально подтверждено анализом РНК — методом, который, несмотря



А — гетерозиготная делеция 2–6 экзонов; Б — гетерозиготная дупликация 2–7 экзонов

Рисунок 2 — Результаты детекции CNV в гене F8, визуализированные в программе Coffalyser.NET

на высокую информативность, отличается значительной трудоёмкостью, длительностью и стоимостью, что делает его непригодным для рутинной клинической диагностики. Тем не менее, совпадение результатов РНК-анализа с последующим MLPA-исследованием служит независимым доказательством высокой чувствительности и эффективности метода MLPA в детекции крупных делеций в гене F8, что особенно важно в повседневной практике.

Дупликации экзона 13 и экзонов 2–7, выявленные у пациентов с лёгкой и тяжёлой формами заболевания соответственно, не были обнаружены при стандартных методах молекулярно-генетического анализа. Данный факт подтверждает, что крупные дупликации могут нарушать регуляцию экспрессии или сплайсинг без очевидных точечных изменений в последовательности гДНК. Дупликация экзона 13 ранее описана как редкий вариант, ассоциированный с лёгкой формой гемофилии А, и зарегистрирована в базах данных аллельных вариантов FVIII Coagulation Factor Variant Databases как и CHAMP Variant List 2022 [8, 9]. Дупликация экзонов 2–7, выявленная у двух кровных братьев, встречается крайне редко и не описана в литературе как самостоятельный вариант (без вовлечения соседних экзонов), согласно данным баз FVIII Coagulation Factor Variant Databases как и CHAMP Variant List 2022 [8, 9]. Это, вероятно, новый или крайне редкий структурный вариант, сочетающийся с аномальным паттерном инверсии интрона 1, описанным нами ранее [7]. Данный случай демонстрирует, что стандартные тесты по определению сложных перестроек, таких как IVS1, могут показывать нестандартные результаты при наличии сопутствующих CNV, и подчёркивает необходимость CNV-анализа для полной характеристики сложных генетических изменений в гене F8.

Выявление крупных делеций и дупликаций в гене F8 в гетерозиготном состоянии подчёркивает ценность MLPA для надёжного скрининга носительства в семьях с отягощённым анамнезом. Метод показал

высокую чувствительность при верификации заподозренных CNV у включённых пациентов и членов их семей, что соответствует литературным данным [4, 11, 12] о высокой воспроизводимости и специфичности MLPA в диагностике гемофилии А.

Заключение

Настоящее исследование, выполненное впервые в Республике Беларусь, демонстрирует ценность применения метода MLPA для выявления крупных структурных перестроек гена F8 у пациентов с гемофилией А. Полученные результаты подтверждают высокую диагностическую эффективность и клиническую значимость MLPA в выявлении крупных делеций и дупликаций, которые могут оставаться нераспознанными при использовании стандартных диагностических подходов. Включение MLPA в алгоритм молекулярно-генетического обследования пациентов с гемофилией А позволяет устанавливать генетическую причину заболевания в полном объёме, стратифицировать пациентов по группам риска развития ингибиторов к фактору VIII и оптимизировать заместительную терапию. Раннее и точное установление генотипа способствует персонализированному подходу к лечению, снижению частоты тяжёлых геморрагических проявлений и улучшению качества жизни пациентов. Кроме того, результаты MLPA-анализа создают надёжную основу для медико-генетического консультирования семей с отягощённым анамнезом. Выявление носительства у женщин (матерей, сестёр, дочерей) в гетерозиготном состоянии даёт возможность прогнозировать риск передачи заболевания в последующих поколениях. Это особенно важно для семей с тяжёлыми формами заболевания и высоким риском развития ингибиторной формы гемофилии А, поскольку точное знание генотипа позволяет в кратчайшие сроки оптимизировать тактику проводимой заместительной терапии и минимизировать осложнения.

Библиографический список

1. Haemophilia / E. Berntorp [et al.] // Nature Reviews Disease Primers. – 2021. – Vol. 7, No. 1. – Article 45.
2. Pezeshkpoor, B. Insights into the Molecular Genetic of Hemophilia A and Hemophilia B: The Relevance of Genetic Testing in Routine Clinical Practice / B. Pezeshkpoor, J. Oldenburg, A. Pavlova // Hamostaseologie. – 2022. – Vol. 42, No. 6. – P. 390–399.
3. Novel approach to genetic analysis and results in 3000 hemophilia patients enrolled in the My Life, Our Future initiative / J. M. Johnsen [et al.] // Blood Advances. – 2017. – Vol. 1, No. 13. – P. 824–834.
4. Multiplex ligation-dependent probe amplification as first mutation screening for large deletions and duplications in haemophilia / D. Belvini [et al.] // Haemophilia. – 2017. – Vol. 23, No. 2. – P. e124–e132.
5. F8 gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: systematic review and meta-analysis / S. C. Gouw [et al.] // Blood. – 2012. – Vol. 119, No. 12. – P. 2922–2934.
6. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Hemophilia Centre Doctors Organisation / C. R. M. Hay [et al.] // Br. J. Haematol. – 2006. – Vol. 133, No. 6. – P. 591–605.
7. Молекулярно-генетическая диагностика в группе пациентов с гемофилией А в Республике Беларусь: 12 новых аллельных вариантов в гене F8 / А. В. Любушкин [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2023. – Т. 22, № 3. – С. 48–57.
8. FVIII Coagulation Factor Variant Databases. – URL: <https://dbs.eahad.org/FVIII> (date of access: 17.03.2026).
9. CDC Hemophilia Mutation Project (CHAMP & CHBMP). – URL: <https://www.cdc.gov/hemophilia/mutation-project/index.html> (date of access: 17.03.2026).
10. Characterization of large deletions in the F8 gene using multiple competitive amplification and the genome walking technique / G. L. You [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2013. – Vol. 11, No. 6. – P. 1103–1110.
11. Deletions and duplications in the factor VIII gene identified using multiplex ligation-dependent probe amplification / B. D. M. Theophilus [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2011. – Vol. 9, No. 3. – P. 605–607.
12. Molecular characterization of female hemophilia A by multiplex ligation-dependent probe amplification analysis and X-chromosome inactivation study / M. J. Song [et al.] // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 2011. – Vol. 22, No. 3. – P. 211–214.

A.V. Liubushkin, E.V. Dmitriev, E.A. Polyakova, L.I. Volkova, I.E. Guryanova

**ROLE OF MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION
IN HEMOPHILIA A: ANALYSIS OF LARGE F8 VARIANTS**

Hemophilia A is caused by pathogenic variants in the F8 gene, with large deletions and duplications accounting for approximately 6% of severe cases and 1,4% of mild/moderate forms. Standard molecular diagnostic approaches typically include screening for introns 22 and 1 inversions, followed by sequencing of coding exons and flanking splice sites of the F8 gene. However, these methods frequently fail to detect large structural rearrangements, such as deletions and duplications, as the underlying genetic cause. This study is the first in Belarus to assess the utility of multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) for identifying large structural alterations in the F8 gene. The study included 6 male patients with hemophilia A from 5 unrelated families and 3 female blood relatives (mothers or sisters), assessed for carrier status and mode of inheritance. MLPA identified hemizygous large CNV in all patients: deletions of exon 6 and exons 2–6, and duplications of exon 13 and exons 2–7. The same structural alterations were detected in heterozygous state in the female relatives examined. These findings demonstrate the high sensitivity and clinical value of MLPA in the genetic diagnosis of hemophilia A. The method provides a robust foundation for precise medical genetic counseling in families with a positive history, accurate risk assessment for disease transmission, and prevention of therapy-related complications.

Key words: *hemophilia A, F8 gene, genetic variants, genetic diagnosis, MLPA analysis, large deletions and duplications*

Поступила 01.04.2026