

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВРОЖДЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

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

¹ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии», д. Боровляны, Беларусь;

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

Наследственные нарушения свертывания крови представляют собой гетерогенную группу врожденных заболеваний, которые характеризуются предрасположенностью к спонтанным кровотечениям с выраженной вариабельностью клинических проявлений – от легких до тяжелых. К наиболее распространенным врожденным коагулопатиям относят гемофилию А, гемофилию В и болезнь Виллебранда. Причиной их возникновения являются патогенные изменения в генах, которые кодируют соответствующие факторы свертывания крови.

Диагностика наследственных нарушений системы гемостаза с использованием рутинных клинико-лабораторных тестов обеспечивает точную диагностическую информацию для большинства пациентов с тяжелыми фенотипическими проявлениями заболевания. Тем не менее, у пациентов с легкими фенотипами не удается установить точный диагноз из-за разнообразия клинико-лабораторных проявлений. В таких случаях генетическая диагностика становится ценным инструментом не только для верификации клинического диагноза, но и для постановки точного диагноза, назначения патогенетически обоснованной заместительной терапии, выявления носителей и проведения медико-генетического консультирования.

Цель исследования. Оценить спектр генетических нарушений у пациентов с клинико-лабораторными проявлениями врожденной коагулопатии.

В исследование включены 21 пациент в возрасте до 18 лет (17 мальчиков и 4 девочки) из 19 неродственных семей. Среди них 15 пациентов с клинически установленным диагнозом гемофилии А легкой и среднетяжелой степени, 1 пациент с фенотипом легкой гемофилии А и снижением активности фактора Виллебранда, и 1 пациент с комбинированным дефицитом факторов свертывания VIII и IX. У трех девочек в анамнезе присутствовал геморрагический синдром и снижение активности фактора свертывания VIII, а у одной – снижение активности как фактора свертывания VIII, так и фактора Виллебранда. Гемостазиологические тесты проводились на автоматическом коагулометре ACL9000 (Instrumentation Laboratory, США). Материалом для генетического исследования служили образцы венозной крови пациентов. Определение инверсии 22-го и 1-го интронов гена F8 осуществлялось с помощью метода инвертированной ПЦР и мультиплексной ПЦР, соответственно. Генетический анализ таргетных регионов проводился методом высокопроизводительного секвенирования на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием кастомной панели генов F8, F9, VWF, ADAMTS13, F13A1, F13B (Qiagen, Германия). Все клинически значимые аллельные варианты подтверждались с помощью капиллярного секвенирования по Сенгеру на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems (Thermo Scientific, США).

В результате генетического анализа у пациентов выявлены патогенные варианты или варианты с неясным клиническим значением только в генах F8 и F9.

У всех пациентов с клинически установленной гемофилией А (n=15) обнаружены патогенные варианты в гене F8, описанные в базе данных Factor VIII Gene (F8) Variant Database и ассоциированные с фенотипом гемофилии А. В зависимости от типа генетического нарушения распределение было следующим: 11 миссенс-мутаций (с.398A>G, р.Tyr133Cys; с.815T>C, р.Val272Ala; с.1172G>A, р.Arg391His; с.1171C>T, р.Arg391Cys; с.1433A>G, р.Asp478Gly; с.1834C>T, р.Arg612Cys; с.5414A>G, р.Tyr1805Cys; с.5879G>A, р.Arg1960Gln; с.6533G>A, р.Arg2178His; с.6785T>C, р.Val2262Ala; с.6968G>A, р.Arg2323His), одна сайлент-мутация (с.1569G>T, р.Leu523Leu) и одна однонуклеотидная дупликация, вызывающая сдвиг рамки считывания и образование преждевременного стоп-кодона (с.4379dupA, р.Asn1460Lys fs 1461Ter). У одного пациента с легкой формой гемофилии А, помимо патогенного варианта, обнаружена ранее не описанная однонуклеотидная замена в гене F8 (с.3746T>G, р.Leu1249Arg). У пациента с легкой формой гемофилии А и снижением активности фактора Виллебранда в анамнезе молекулярно-генетический анализ выявил патогенный аллельный вариант (с.330G>A, р.Met110Ile) только в гене F8, подтверждая диагноз гемофилии А.

У пациента с комбинированным дефицитом факторов VIII и IX выявлен описанный и ассоциированный с гемофилией А патогенный вариант в гене F8 (с.1172G>A, р.Arg391His), а также ранее не описанный вариант в гене F9 (с.1250C>T, р.Thr417Ile). В соответствии с результатами генетического исследования для уточнения характера наследования выявленных генетических вариантов, обследованы бессимптомные

кровные родственники пациента (мать и родная сестра). Как у матери, так и у сестры пациента выявлено гетерозиготное носительство аллельного варианта с.1172G>A, р.Arg391His в гене F8, при этом аллельного варианта с.1250C>T, р.Thr417Ile в гене F9 обнаружено не было, что предполагает вероятный de novo характер варианта в гене F9.

Генетическое обследование трех девочек с пониженными показателями активности фактора VIII, позволило идентифицировать ранее описанные патогенные варианты в гене F8 в гетерозиготном состоянии: с.970C>T, р.Gln324Ter; с.5879G>A, р.Arg1960Gln и инверсию 22 интрона. У девочек с комбинированным дефицитом факторов VIII и Виллебранда патогенные варианты в гене VWF не были выявлены, при этом в гене F8 выявлена гетерозиготная однонуклеотидная замена с.1171C>T, р.Arg391Cys, также детектированная у ее кровных братьев с гемофилией А. Таким образом, исследование подтвердило статус носителя гемофилии А у четырех девочек, что имеет важное значение для медико-генетического консультирования и планирования семьи.

Заключение. Молекулярно-генетическое исследование патогенеза врожденных коагулопатий позволяет не только верифицировать клинический диагноз, но и проводить дифференциальную диагностику в сложных клинических случаях. Полученные данные подчеркивают важность генетической диагностики для точного определения типа коагулопатии, выбора оптимальной заместительной терапии и улучшения подходов к медицинскому и генетическому консультированию.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЦЕНТР РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ И ЭКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»

**«Актуальные вопросы гематологии
в общеврачебной практике»**

(г. Гомель, 12 ноября 2025 г.)

Материалы республиканской
научно-практической конференции
с международным участием

Под общей редакцией
доктора медицинских наук, профессора А.В. Рожко

Гомель
ГУ «РНПЦ РМиЭЧ»
2025