

## ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К НАЗАЛЬНЫМ КРОВОТЕЧЕНИЯМ У ЛОШАДЕЙ

**В.И. Глазко**, доктор сельскохозяйственных наук,  
**Т.А. Эркенов**, кандидат сельскохозяйственных наук, **Р. Альрафи**,  
**Т.Т. Глазко**, доктор сельскохозяйственных наук

*Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева,  
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49  
E-mail: [tglazko@rambler.ru](mailto:tglazko@rambler.ru)*

*Предрасположенность лошадей к назальному кровотечению существенно влияет на их работоспособность и требует контроля при селекционной работе, направленной на совершенствование породы, улучшение ее рабочих качеств. Одной из причин таких кровотечений являются спонтанные нуклеотидные замены в домене D'-D3 фактора фон Виллебранда. В проведенных исследованиях выполнен анализ присутствия и распространения мутации в домене D'-D3 этого фактора (с.2826 A>C в экзоне 22, приводящая к замене лизина на аспарагин) у российских пород лошадей (русский рысак, русская верховая, русский тяжеловоз, алтайская, карачаевская). Наиболее высокая частота встречаемости такой замены обнаружена у русского рысака и русского тяжеловоза. Для выяснения возможной связи распространения этой мутации с популяционно-генетическими взаимоотношениями между породами лошадей по 26-ти фрагментам геномной ДНК, фланкированных инвертированными повторами участков микросателлитов (GA)<sub>n</sub>C, (AG)<sub>n</sub>C и (GAG)<sub>n</sub>C (Inter Simple Sequence Repeats – ISSR-PCR маркер), выполнено полилокусное гентипирование, рассчитаны генетические расстояния и построены соответствующие дендрограммы. Установлено, что распространенность выявленной мутации не связана с популяционно-генетической близостью пород. Учитывая тот факт, что исторически в формировании русского рысака и русского тяжеловоза принимала участие орловская порода, не исключено, что высокая частота встречаемости этой мутации у русского рысака и русского тяжеловоза может быть обусловлена ее присутствием у исходной орловской породы лошадей.*

## PREDISPOSITION TO NASAL BLEEDING IN HORSES

**Glazko V.I., Erkenov T.A., Alrafy R., Glazko T.T.**

*Russian state agrarian University — Moscow agricultural Academy named after K.A. Timiryazev,  
127550, Moskva, ul. Timiryazevskaya, 49  
E-mail: [tglazko@rambler.ru](mailto:tglazko@rambler.ru)*

*The predisposition of horses to nasal bleeding significantly affects their performance and requires special control especially in the breeding work aimed at improving the breed, improving its working qualities. One of the causes of such bleeding is spontaneous nucleotide substitutions in the D'-D3 domain of von Willebrand factor. In this paper, the presence and distribution of mutations in the domain D'-D3 of this factor is analyzed (с.2826 A>C in exon 22, leading to the replacement of lysine by asparagine) in Russian horse breeds (Russian Trotter, Russian Saddle horse, Russian Heavyweight, Altai, Karachai horse breeds). The highest frequency of this replacement was found in the Russian Trotter and Russian Heavyweight. To clarify the possible relationship of the spread of this mutation with the population-genetic relationship between horse breeds on 26 fragments of genomic DNA, flanked by inverted repeats sections of microsatellites (GA)<sub>n</sub>C, (AG)<sub>n</sub>C and (GAG)<sub>n</sub>C (Inter Simple Sequence Repeats – ISSR-PCR markers) polylocus genotyping was performed, genetic distances were calculated and corresponding dendrograms were constructed. It turned out that the prevalence of the detected mutation is not related to the population-genetic proximity of breeds. However, given the fact that historically in the formation of the Russian Trotter and Russian Heavyweight took part Orel horse breed, it is possible that the high frequency of this mutation in the Russian Trotter and the Russian Heavyweight may be due to its presence in the group of Oryol horses that are the source for these breeds.*

**Ключевые слова:** фактор фон Виллебранда; мутация, назальное кровотечение, генетические расстояния, ISSR-PCR маркеры, породы лошадей

**Key words:** von Willebrand factor; mutation, nasal bleeding, genetic distances, ISSR-PCR markers, horse breeds

Назальные кровотечения у лошадей, возникающие при физических нагрузках, известны давно, однако методы выявления повышенной предрасположенности к ним остаются недостаточно разработанными [1]. Генетическая предрасположенность к назальным кровотечениям при физических нагрузках подробно исследована у людей, в качестве одной из причин выделены дефекты фактора фон Виллебранда (von Willebrand factor, vWF). Функция vWF является ключевой в агрегации тромбоцитов, взаимодействии с фактором свертывания крови VIII (FVIII). После активации и высвобождения FVIII запускает превращение протромбина в активную форму тромбина [2]; 95% FVIII связывается с vWF, стабилизируя его.

Заболевание фон Виллебранда (von Willebrand disease – VWD) подразделяют на три основных типа. Тип 1 включает частичный количественный дефицит vWF, тип 2 – качественные дефекты, тип 3 – практически полный дефицит vWF. Тип VWD 2 разделен на че-

тыре вторичных категории. Тип 2А включает варианты со сниженной адгезией тромбоцитов, вызванной дефицитом высокомолекулярных мультимеров vWF. Тип 2В характеризуется повышенным родством к тромбоциттарному гликопротеину Ib. Тип 2М включает варианты с неполноценной адгезией тромбоцитов к эндотелию сосудов, несмотря на относительно нормальные размеры vWF. Тип 2N отличается от всех остальных уменьшенной способностью к связыванию фактора FVIII [3].

В литературе имеются данные о спонтанных мутациях у лошадей в домене D'-D3, участвующем в связывании FIII (в частности, с.2826 A>C в экзоне 22), в результате происходит замена лизина на аспарагин, однако, до сих пор частота встречаемости и распространения этой мутации у разных пород лошадей недостаточно исследованы [4].

Подобные нуклеотидные замены обнаруживаются у человека в домене D3 vWF связывания с FIII, часто диагностируемые по фенотипу как гемофилия А [5]. У

человека домен связывания vWF с FVIII локализован в первых 272 aa зрелого vWF в области, кодируемой экзонами 18-22 гена vWF [6]. Тип 2N VWD у человека описан около 30 лет назад; показано, что он наследуется по рецессивному типу, в домене D'-D3 выявлено 53 миссенс мутаций (несинонимических мононуклеотидных замен) [7]. Большинство мутаций типа 2N vWD локализованы в пределах сайта связывания FVIII vWF между остатками aa Ser764 и Arg1035 и охватывают домен D' и часть домена D3 [8-10]. Распространенность таких мутаций тесно связана с различными этносами человека и существенно различается у представителей разных стран [11].

У лошадей также выявлены наследуемые количественные и качественные дефекты фактора фон Виллебранда [12,13]. Несмотря на важность прогноза предрасположенности к назальным кровотечениям у лошадей в связи с их использованием при физических нагрузках, частота встречаемости нуклеотидных замен vWF в сайте связывания с фактором FIII и их распространенность недостаточно изучены.

Целью настоящих исследований была разработка метода выявления мутации в домене связывания vWF с FIII (с.2826 A>C в экзоне 22, условно обозначенная как аллель C), соответствующая нуклеотидным заменам при VWD 2N, а также оценка распространения этой мутации у лошадей разных пород.

**Методика.** Экспериментальные исследования, математическая обработка и анализ полученных данных выполняли в Центре нанобиотехнологий РГАУ–МСХА имени К.А. Тимирязева. Объектом исследований послужили 119 гол. лошадей карачаевской породы (ООО «Аргамак» – n=22, ООО «Шаман» – n=29, ООО «Дон» – n=18, ООО «Мустанг» – n=50), 26 – алтайской, 32 – породы русский тяжеловоз, 14 – русская верховая и 22 гол. русский рысак (конезавод «Поворот В.П.»). Эти породы были подразделены на две группы: горные аборигенные (алтайская и карачаевская) и заводские (русский рысак, русская верховая и русский тяжеловоз). Исторически породы тесно переплетаются друг с другом: алтайская – с русским тяжеловозом, русский тяжеловоз – с орловским рысаком, русский рысак, русская верховая и карачаевская – с английской верховой [14-17].

Для выделения ДНК из цельной крови лошадей по стандартной методике использовали набор «ДНК-Экстран-1». При проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) применяли две методики – выявление нуклеотидной замены с использованием аллель-специфичных праймеров, условно обозначенной нами как мононуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism – SNP) и ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, RFLP). Суть метода заключается в подборе рестриктазы (фермент, расщепляющий ДНК в месте сочетания нуклеотидов, специфического для данной рестриктазы), которая выявляла бы последовательность с одним аллелем и не выявляла бы с другим. Вторая методика – аллель-специфическая ПЦР (метод SNP), для которой подбирают праймеры, различающиеся только целевым нуклеотидом на фланге. Аллельные варианты различаются за счет того, что 3'-концевой нуклеотид одного из праймеров гибридизуется непосредственно с переменным нуклеотидом (позиция SNP), что обуславливает наличие или отсутствие ПЦР.

Подбор праймеров осуществляли с помощью программы Primer-BLAST. Из диссертации Elaine M.

Norton [18] были взяты данные секвенирования последовательности гена фактора Виллебранда здоровой лошади и жеребенка, у которого проявилось назальное кровотечение. Для выявления нуклеотидной замены с применением методики SNP были подобраны два прямых праймера, отличающихся друг от друга наличием на 3' конце соответствующих нуклеотидов (A и C). Длина праймеров: прямой (SNP) – 24 п.о. (пар нуклеотидов); прямой (ПДРФ) – 20 п.о.; обратный (и для SNP, и для ПДРФ) – 19 п.о. Для рестрикции применяли эндонуклеазу рестрикции HpySE526 I, имеющую сайт посадки A↓CGT.

Далее выполняли сравнительный анализ генетических структур по полилокусным спектрам продуктов амплификации фрагментов геномной ДНК, фланкированных инвертированным повтором участков микросателлитных локусов, используемых в качестве маркеров (Inter-Simple Sequence Repeat - ISSR-PCR). ПЦР анализ проводили по методике, предложенной Зеткевичем Е. с соавторами [19], с некоторыми модификациями. В качестве праймеров использовали ди- и тринуклеотидные микросателлиты с якорными нуклеотидами – (AG)<sub>9</sub>C, (GA)<sub>9</sub>C и (GAG)<sub>6</sub>C. Все праймеры были синтезированы фирмой Синтол, Россия. ПЦР проводили в объеме 20 мкл с использованием коммерческого набора реагентов ПЦР-РВ (Синтол, Россия) на амплификаторе «Терцик» (ДНК-технологии, Россия).

Продукты амплификации (ампликоны) разделяли в горизонтальном 1,5%-ном агарозном геле в 1x TBE-буфере. Перед нанесением в гель ПЦР-продукт смешивали с красителем – бромфенолом в равных количествах. Напряжение источника тока – 109 В, длительность разделения – 90 мин. Окрашивание гелей проводили бромистым этидием концентрацией 0,5 мкг/мл. Фрагменты ДНК визуализировали в УФ свете при помощи трансиллюминатора УВТ-1 (Биоком, Россия). Размеры фрагментов ДНК определяли при помощи маркера молекулярных масс 100 bp+1.5 Kb+3 Kb (12 фрагментов от 100 до 3000 bp) M27 (СибЭнзим, Россия).

Математическая обработка результатов исследований была основана на том, что для каждого спектра строили матрицу, отражающую присутствие/отсутствие конкретных ампликонов. Для обработки данных использовали программу Adobe Photoshop, Microsoft Excel, TFPGA. Каждый ампликон спектра рассматривали как один локус ДНК. Полиморфизм такого локуса оценивали по наличию/отсутствию ампликона соответствующей длины в спектрах с использованием компьютерной программы TFPGA. Выполнен расчет индекса PIC (Polymorphic Information Content), который характеризует уровень ожидаемой гетерозиготности локусов – продуктов амплификации, исходя из представлений о том, что по каждому локусу исследованная группа животных находится в равновесном состоянии, соответствующем закону Харди-Вайнберга [20]. По частотам встречаемости ампликонов рассчитывали генетические расстояния по методу М.Нея [21] между исследуемыми группами лошадей разных пород и хозяйств. На основании данных о генетических расстояниях выполняли кластерный анализ и построение дендрограмм.

**Результаты и обсуждение.** Исследования с использованием двух методов выявления нуклеотидной замены в позиции с.2826 A>C в экзоне 22 фактора Виллебранда позволили оценить частоту встречаемости этой мутации у лошадей разных пород (табл.1). Наиболее высокая частота встречаемости гомозигот по аллелю

дикого типа (A) наблюдается среди лошадей русской верховой и алтайской пород, низкая – у русской тяжеловозной и русской рысистой. Самая высокая частота встречаемости аллеля A выявлена у лошадей алтайской и русской верховой породы, самая низкая – у рысаков и русских тяжеловозов. Эти данные дают возможность прогнозирования повышенной предрасположенности к назальным кровотечениям у рысистых и тяжеловозных лошадей. Можно ожидать, что у лошадей этих пород имеется повышенный риск проявления болезни Виллебранда типа 2N при физических нагрузках, так как рассматриваемая нами мутация приводит именно к этому типу заболевания.

**Табл. 1. Частота встречаемости аллелей A и C 22 экзона 22 vWF у лошадей разных пород**

Порода, хозяйство	A	C
Карачаевская, «Аргатак»	0,46	0,54
Карачаевская, «Шаман»	0,46	0,54
Карачаевская, «Мустанг»	0,37	0,63
Карачаевская, «Дон»	0,47	0,53
Карачаевская, в среднем	0,44	0,58
Алтайская	0,61	0,39
Русская верховая	0,57	0,43
Русский рысак	0,16	0,84
Русская тяжеловозная	0,25	0,75

Поскольку у людей распространение некоторых нуклеотидных замен, связанных с предрасположенностью к болезни Виллебранда типа 2N, зависит от этнической принадлежности [22], можно ожидать, что и у лошадей межпородные различия обусловлены определенной близостью генетических структур, так как при создании пород и для совершенствования их рабочих качеств достаточно часто использовали одни и те же улучшающие породы.

Выполнен анализ генетических структур пород лошадей с использованием полилокусного генотипирования геномных фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами участков микросателлитных локусов (GA)<sub>9</sub>C, (AG)<sub>9</sub>C и (GAG)<sub>6</sub>C (Inter Simple Sequence Repeats - ISSR-PCR маркеры). Получены продукты амплификации геномных фрагментов (ампликонов) размером от 300 до примерно 1750 п.о. Общее количество обнаруженных ампликонов геномной ДНК с использованием всех трех праймеров составило 26 фрагментов. Наиболее полиморфными у исследованных лошадей оказались спектры ампликонов, полученные по фрагментам геномной ДНК, фланкированным инвертированным повтором (AG)<sub>9</sub>C, наименее – инвертированным повтором (GAG)<sub>6</sub>C (табл.2).

Распределение аллельных частот по этим локусам варьировало в зависимости от праймера, наиболее полиморфными оказались спектры ампликонов, полученных с использованием в качестве праймера участка

**Табл. 2. Полиморфное информационное содержание (PIC) и доля полиморфных локусов спектров продукции амплификации по праймерам (AG)<sub>9</sub>C, (GA)<sub>9</sub>C и (GAG)<sub>6</sub>C**

Показатель	Праймер		
	(GA) <sub>9</sub> C	(AG) <sub>9</sub> C	(GAG) <sub>6</sub> C
Общее количество фрагментов	13	9	4
Количество полиморфных фрагментов	5	6	1
Доля полиморфных локусов, %	38	67	25
PIC	0,21	0,34	0,22

динуклеотидного микросателлита (AG)<sub>9</sub>C у алтайских лошадей, наименее – тринуклеотида (GAG)<sub>6</sub>C у русского тяжеловоза (табл.3). Спектры ампликонов по всем 26 локусам оказались наименее полиморфными у русского тяжеловоза, наиболее – у алтайских лошадей. То есть по этим спектрам русский тяжеловоз был самой консолидированной породой.

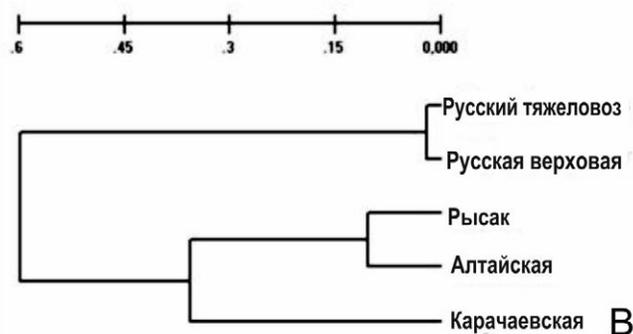
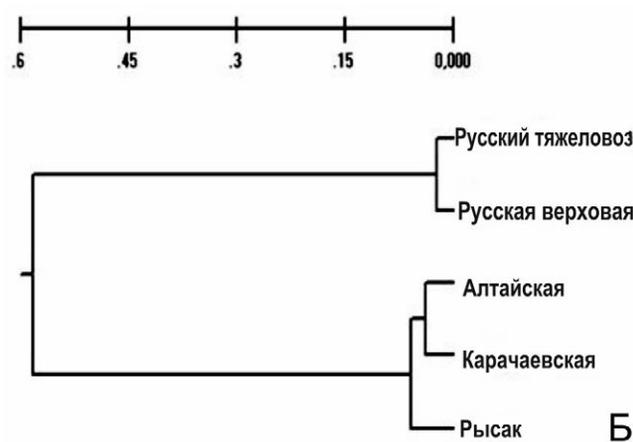
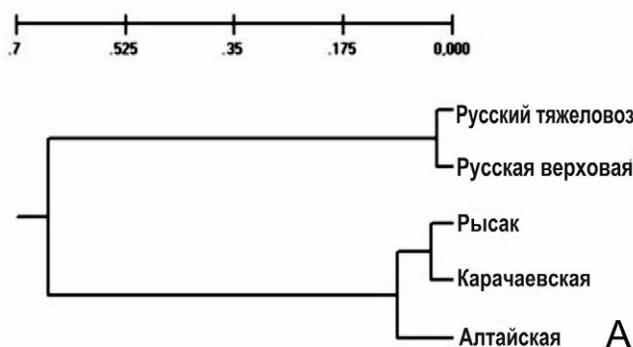
**Табл. 3. Полиморфное информационное содержание (PIC) у лошадей разных пород по спектрам ампликонов, полученных с использованием в качестве праймеров последовательностей (AG)<sub>9</sub>C, (GA)<sub>9</sub>C и (GAG)<sub>6</sub>C**

Праймер	Порода				
	русский рысак	алтайская	карачаевская	русский тяжеловоз	русская верховая
(GA) <sub>9</sub> C	0,20	0,20	0,20	0,19	0,24
(AG) <sub>9</sub> C	0,30	0,65	0,30	0,23	0,22
(GAG) <sub>6</sub> C	0,24	0,24	0,24	0,15	0,21
В среднем	0,25	0,36	0,25	0,19	0,22

Расчет генетических расстояний на основании этих спектров и построение дендрограмм свидетельствуют о том, что наиболее близкими по генетической структуре оказались лошади пород русская верховая и русский тяжеловоз, причем эта закономерность обнаруживалась по спектрам ампликонов всех трех праймеров (рис.).

На дендрограмме, построенной на основании распределения у исследованных животных фрагментов геномной ДНК, фланкированных инвертированными повторами (GA)<sub>9</sub>C, (AG)<sub>9</sub>C и (GAG)<sub>6</sub>C, выделяются два основных кластера: один – объединяющий русскую верховую и русского тяжеловоза, второй – алтайскую, карачаевскую породу и рысаков.

Поскольку самая высокая частота аллеля C, локализованного в разных кластерах, наблюдается у рысаков (0,84) и русского тяжеловоза (0,75), а самая низкая – у алтайских лошадей (0,39), популяционно-генетической близостью исследованных пород нельзя объяснить распространение аллеля. В то же время, участие орловской породы в истории формирования рысаков и русского тяжеловоза не исключает возможности распространения этого аллеля за счет «эффекта основателя». Вероятно, носительство мутации, связанной



Дендрогаммы генетических взаимоотношений между породами лошадей: А – праймер (GA)<sub>9</sub>C; Б – праймер (AG)<sub>9</sub>C; В – праймер (GAG)<sub>9</sub>C.

с повышенной предрасположенностью к назальным кровотечениям, имеет специфические для этих пород физиологические компенсаторные механизмы.

Таким образом, у лошадей русской верховой, русский тяжеловоз, русский рысак, алтайской, карачаевской пород выявлена высокая частота встречаемости нуклеотидной замены по сравнению с референсным геном (с.2826 А>С в экзоне 22 домена D'-D3 фактора фон Виллебранда), приводящая к замене лизина на аспарагин. Спонтанные мутации в домене D'-D3 этого фактора ассоциированы с нарушением агрегации тромбоцитов и повышенной предрасположенностью, в частности, к назальным кровотечениям. Наибольшая

частота встречаемости этого дефекта обнаружена у рысаков и русского тяжеловоза, наименьшая – у алтайской лошади. Данные исследований свидетельствуют о том, что распространенность аллеля С не связана с популяционно-генетической близостью пород, оцененной по 26-ти ISSR-PCR маркерам. Исторически в формировании русского рысака и русского тяжеловоза принимала участие орловская порода, поэтому не исключено, что высокая частота встречаемости аллеля С у русского рысака и русского тяжеловоза может быть обусловлена его присутствием у исходной орловской породы лошадей.

**Литература.**

1. Poole D.C., Erickson H.H. Exercise-induced pulmonary hemorrhage: where are we now? // *Veterinary Medicine-Research and Reports.* – 2016. – V.7. – P.133-148.
2. Tang W., Cushman M., Green D., Rich S.S., Lange L.A., Yang Q., Tracy R.P., Toftler G.H., Basu S., Wilson J.G., Keating B.J., Weng L.C., Taylor H.A., Jacobs Jr. D.R., Delaney J.A., Palmer C.D., Young T., Pankow J.S., O'Donnell C.J., Smith N.L., Reiner A.P., Folsom A.R.. Gene centric approach identifies new and known loci for F VIII activity and VWF antigen levels in European Americans and African Americans // *American journal of hematology* // 2015. – V.90(6). – P.534-40.
3. Sadler J. E., Budde U., Eikenboom J.C.J., Favaloro E.J., Hill F.G.H., Ingerslev J., Lee C.A., Lillicrap D., Mannucci P.M., Mazurier C., Meyer D., Nichols W.L., Nishino M., Peake I.R., Rodeghiero F., Schneppenheim R., Ruggeri Z.M., Srivastava A., Montgomery R.R., Federici A.B. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor // *Journal of thrombosis and haemostasis.* – 2006. – V.4 (10). – P.2103-2114.
4. Norton E.M., Wooldridge A.A., Stewart A.J., Cusimano L., Schwartz D.D., Johnson, C.M., Boudreaux M.K., Christopherson P.W. Abnormal coagulation factor VIII transcript in a Tennessee Walking Horse colt with hemophilia A // *Veterinary clinical pathology.* – 2016. – V.45(1). –P.96-102.
5. Berber E., Fidanci I.D., Un C., Maarri O., Aktuglu G., Gurgey A., Celkan T., Meral A., Oldenburg, J., Graw J., Akar N., Caglayan H. Sequencing of the factor 8 (F8) coding regions in 10 Turkish hemophilia A patients reveals three novel pathological mutations, and one rediagnosis of von Willebrand's disease type 2N // *Haemophilia.* – 2006. – V.12 (4). – P.398-400.
6. Casonato A., Galletta E., Sarolo L., Daidone V. Type 2N von Willebrand disease: Characterization and diagnostic difficulties // *Haemophilia.* –2018. –V.24 (1). – P.134-140.
7. Hampshire D.J., Goodeve A.C. The international society on thrombosis and haemostasis von Willebrand disease database: an update // *Semin Thromb Hemost.* – 2011. –V.37 (5). – P.470-479.
8. Ginsburg D., Sadler E.J. Von Willebrand disease: a database of point mutations, insertions, and deletions. For the Consortium on von Willebrand Factor Mutations and Polymorphisms, and the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasi // *Thrombosis and haemostasis.* – 1993. – V.70 (02). – P. 69.
9. Kroner P.A., Friedman K.D., Fahs S.A., Scott J.P., Montgomery R.R. Abnormal binding of factor VIII is linked with the substitution of glutamine for arginine 91 in von Willebrand factor in a variant form of von

- Willebrand disease // *Journal of Biological Chemistry*. – 1991. – V.266 (29). – P.19146-19149.
10. Mazurier C., Goudemand J., Hilbert L., Caron C., Fressinaud, E., Meyer D. Type 2N von Willebrand disease: clinical manifestations, pathophysiology, laboratory diagnosis and molecular biology // *Best Practice & Research Clinical Haematology*. – 2001. – V.14 (2). – P.337–347.
  11. Wang Q.Y., Song J., Gibbs R.A., Boerwinkle E., Dong J.F., Yu F.L. Characterizing polymorphisms and allelic diversity of von Willebrand factor gene in the 1000 Genomes // *Journal of thrombosis and haemostasis*. – 2013. – V.11 (2). – P.261-269.
  12. Trommershausen-Smith A. Aspects of Genetics and Disease in the Horse 1,2 // *Journal of animal science*. – 1980. – V.51 (5). – P.1087-1095.
  13. Brooks M., Leith G.S., Allen A.K., Woods P.R., Benson R.E., Dodds W.J. Bleeding disorder (von Willebrand disease) in a quarter horse // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 1991. – V.198 (1). – P.114-116.
  14. Голик Т.В., Эркенов Т.А., Глазко Т.Т., Глазко В.И. Спектры ISSR-PCR маркеров в оценках популяционно-генетической дифференциации карачаевской лошади в хозяйствах Карачаево-Черкесской республики // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. – 2018. – №3. – С.61-77.
  15. Парфенов В.А., Хотов В.Х. Государственная племенная книга лошадей карачаевской породы. М.: Изд. РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2010. – 287 с.
  16. Лобанова Т.В., Трушников В.А. Алтайская лошадь и этапы ее преобразования // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. – 2005. – №1 (17). – С.84-87.
  17. Камбегов Б.Д., Балакишин О.А., Хотов В.Х. Лошади России: полная энциклопедия. М.: «РИЦ МДК», 2002. – 235 с.
  18. Norton E. Mutational analysis and coagulation factor VIII sequence in a colt with hemophilia A // *PhD Thesis*, 2013. URL: <http://hdl.handle.net/10415/3686>.
  19. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*. – 1994. – V.20 (2). – P.176–183.
  20. Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism // *American journal of human genetics*. – 1980. – V.32 (3). – P.314-331.
  21. Nei Masatoshi. Genetic distance between populations // *The American Naturalist*. – 1972. – V.106 (949). – P.283-292.
  22. Bellissimo D.B., Christopherson P.A., Flood V.H., Gill J.C., Friedman K.D., Haberichter S.L., Shapiro A.D., Abshire T.C., Leissinger C., Hoots W.K., Lusher J.M., Ragni M.V. VWF mutations and new sequence variations identified in healthy controls are more frequent in the African-American population // *Blood*. – 2012. – V.119 (9). – P.2135-2140.

Поступила в редакцию 14.03.19  
 После доработки 15.05.19  
 Принята к публикации 20.06.19