

# Новая нонсенс-мутация p.Trp325Ter (c.977G>A) в гене *POU3F4* в якутской семье с синдромом Gusher (DFNX2)\*

Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Кларов Л.А.<sup>1,3</sup>, Терютин Ф.М.<sup>1,2</sup>, Соловьев А.В.<sup>1,2</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>,  
Конникова Э.Э.<sup>2,3</sup>, Николаева К.Ю.<sup>2</sup>, Романов Г.П.<sup>1,2</sup>, Готовцев Н.Н.<sup>1,2</sup>, Саввинова К.Е.<sup>2</sup>,  
Кожевников А.А.<sup>3</sup>, Васильева Л.М.<sup>4</sup>, Федотова Э.Е.<sup>4</sup>, Пак М.В.<sup>2,4</sup>, Леханова С.Н.<sup>2</sup>, Лугинов Н.В.<sup>2,3</sup>,  
Морозов И.В.<sup>5,6</sup>, Бондарь А.А.<sup>5</sup>, Соловьева Н.А.<sup>1,2</sup>, Рафаилов А.М.<sup>2</sup>, Сазонов Н.Н.<sup>2</sup>,  
Алексеев А.Н.<sup>7</sup>, Посух О.Л.<sup>6,8</sup>, Джемилева Л.У.<sup>9</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>9,10</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», 677010, г. Якутск, Сергеляхское ш., д. 4, тел./факс: 8-(4112) 32-19-81, e-mail: barashkov2004@mail.ru

<sup>2</sup> — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», 677010, г.Якутск, ул. Кулаковского, д. 46, тел.: 8-(4112) 49-68-42, e-mail: nelloann@mail.ru

<sup>3</sup> — Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи», 677005, г.Якутск, ул. П.Алексеева, д. 83 «А», тел.: 8-(4112) 43-29-53; e-mail: eizonix@gmail.ru

<sup>4</sup> — Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», 677010, г.Якутск, Сергеляхское ш., д. 4, тел.: 8-(4112) 39-53-20; e-mail: sakhasurdo@mail.ru

<sup>5</sup> — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г.Новосибирск, 630090, пр-т Лаврентьева, д. 8, тел.: (383) 363-51-59, e-mail: mor@niboch.nsc.ru

<sup>6</sup> — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», 633090, г.Новосибирск-90, ул. Пирогова, д. 2, тел./факс: 8-(383) 363-43-33, e-mail: posukh@bionet.nsc.ru

<sup>7</sup> — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера Сибирского отделения Российской академии наук, 677007, г.Якутск, ул. Петровского, д. 1, тел./факс: 8-(4112) 39-00-36, e-mail: secretar@igi.ysn.ru

<sup>8</sup> — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г.Новосибирск, 630090, пр-т Лаврентьева, д. 10, тел.: 8-(383) 333-28-13, факс: 8-(383) 333-12-78, e-mail posukh@bionet.nsc.ru

<sup>9</sup> — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, 450054, г.Уфа, пр-т Октября, д. 71, тел./факс: 8-(347) 235-60-88, e-mail: dzhemilev@mail.ru

<sup>10</sup> — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «башкирский государственный университет», 450076, г.Уфа, ул. З.Валиди, д. 32, тел./факс: 8-(347) 272-63-70, 8-(374) 229-96-16, e-mail: ekkh

Доля случаев врожденной глухоты с X-сцепленным типом наследования составляет не более 1-2%. Впервые в якутской семье с аномалиями внутреннего уха, характерными для синдрома Gusher (DFNX2, OMIM 304400), в гемизиготном состоянии выявлена ранее не описанная замена c.977G>A в гене *POU3F4* у двух полусибсов мужского пола (пораженные индивиды), у их матери и сестры — в гетерозиготном состоянии (здоровые члены семьи). Показано, что обнаруженная транзигция c.977G>A приводит к образованию преждевременного стоп-кодона (p.Trp325Ter) в консервативном, функционально значимом гомеодомене белка POU4 (Brain 4) и сегрегирует с патологическими фенотипами в исследованной якутской семье по X-сцепленному рецессивному типу наследования. В статье также представлено детальное клинко-генетическое описание (компьютерная томография, аудиологический анализ, магнитно-резонансная томография, компьютерная стабиллометрия) членов данной семьи. У двух пробандов с гемизиготной мутацией p.Trp325Ter выявлено: двухсторонняя деформация формы и расширение внутреннего слухового отверстия в латеральной части, увеличенные размеры полукружных каналов, флуктуирующая и/или прогрессирующая двусторонняя смешанная тугоухость, а также умеренное нарушение координации движений в виде вертикальной нестабильности в обеих фазах пробы Ромберга. У матери пробандов, гетерозиготной по мутации p.Trp325Ter, также выявлены изменения формы внутреннего слухового прохода (слева), увеличенные размеры полукружных каналов (с обеих сторон), небольшое двухстороннее снижение остроты слуха по смешанному типу и легкие постуральные нарушения. Результаты молекулярно-генетического скрининга показали, что кроме обследованной якутской семьи, мутация p.Trp325Ter не была обнаружена ни в выборке *GJB2*-негативных пациентов с потерей слуха (n = 68), ни в контрольной выборке индивидов женского пола из популяции якутов (n = 123). Таким образом, наиболее вероятно, что выявленный случай синдрома Gusher обусловлен присутствием мутации p.Trp325Ter в гене *POU3F4*, возникшей в одной якутской семье *de novo*.

**Ключевые слова:** аномалии развития внутреннего уха, синдром «Gusher», X-сцепленная рецессивная глухота, локус Xq21.1, ген *POU3F4*, мутация c.977G>A (p.Trp325Ter)

\* Авторы выражают искреннюю признательность всем участникам исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (14-04-01741\_A), госзаказа Министерства образования и науки РФ «Генетическая история народов Восточной Сибири и эндемичные формы наследственно-обусловленных нарушений слуха» (ГК№6.656.2014/К), Интеграционного проекта СО РАН №92. «Этногенез автохтонных народов Сибири и Северной Азии: компаративный, исторический, этносоциальный и геномный анализ», Гранта Президента Республики Саха (Якутия) им. А.И. Иванова для молодых ученых, специалистов и студентов за 2015 г. (медицинские науки) (РП №80 от 05.02.2015), а также Гранта НОФМУ «Научные исследования» РС(Я) — №2013020100612 на 2014 г.

### Введение

Врожденная глухота у человека встречается примерно у 1 из 1000 новорожденных [9, 11]. Около половины всех этих случаев являются наследственными и передаются в ряду поколений по аутосомно-рецессивному (70—80%) или аутосомно-доминантному типу (10—20%) [12]. Более редкими являются случаи потери слуха с X-сцепленным и митохондриальными типами наследования (1—2%) [12].

Первые сообщения о X-сцепленной рецессивной потере слуха, сочетанной с аномалиями внутреннего уха, датируются концом 1960-х годов, когда группа исследователей под руководством I. Shine и J.R. Watson, 1967 [21], при хирургической операции по стапедопластике у пациента из китайской семьи с кондуктивной потерей слуха обнаружила «эффект фонтана» — бурное излитие перилимфатической жидкости из внутреннего уха [21]. При вскрытии височной кости оказалось, что во внутреннем ухе пациента было очень высокое давление, и перилимфатическая жидкость буквально «разливалась фонтаном», поэтому данная патология, впервые стала известна отохирургам как «синдром Gusher» (фонтан) [21]. В последующем подобное явление «фонтана» было замечено W. Nance [16], при стапедопластике у европейских пациентов с кондуктивной потерей слуха [16].

Несмотря на редкость встречаемости X-сцепленной рецессивной формы глухоты, это первое в мире заболевание органа слуха, для которого методом позиционного картирования были идентифицированы мутации в гене *POU3F4* (DFNX2, OMIM 304400), сегрегирующие с фенотипом (потеря слуха) в изученных семьях [5]. В 1995 г. Y.J. de Kok и др. [5] опубликовали результаты исследований по идентификации точковых мутаций и одной протяженной делеции захватывающей ген *POU3F4*, локализованном на расстоянии 500 кВ от локуса Xq21, в пяти не связанных между собой родством семьях с предположительно X-сцепленным рецессивным типом наследования заболевания [5]. Ген *POU3F4* кодирует транскрипционный фактор POU4 (Brain 4), который, как было показано на модельных животных (крыса), экспрессируется в головном мозге, нервной трубке и слуховом пузырьке на эмбриональной стадии развития (15,5—17,5 дней после зачатия) [5, 6]. У большинства обследованных пациентов наблюдались выраженные аномалии развития внутреннего уха (расширение внутреннего слухового прохода и аномалии улитки), которые к тому времени уже возможно было визуализировать с помощью неинвазивных, радиологических методов исследования [13].

Последующие молекулярно-генетические исследования, проведенные в различных регионах мира, подтвердили ключевую роль мутаций гена *POU3F4* в развитии синдрома Gusher [2—4, 8, 10, 14, 18, 20—23, 27, 28]. Было показано, что в Республике Саха (Якутия) основной молекулярно-генетической причиной врожденной

глухоты у коренного населения (форма аутосомно-рецессивной глухоты 1А типа — DFNB1A) являются мутации в гене *GJB2* (Cx26) [1]. Тем не менее, приблизительно в 50% случаев этиология ранней детской или доречевой тугоухости в популяции якутов остается неизвестной. В связи с этим, актуальным является поиск мутаций в других генах, которые могут быть причиной потери слуха. Учитывая, что в мире около 10—20% случаев врожденной глухоты связаны с аномалиями внутреннего уха [13], мы провели компьютерную томографию пирамиды височной кости у *GJB2*-негативных пациентов (не имеющих мутаций в гене *GJB2*) и обнаружили аномалии внутреннего уха, характерные для синдрома Gusher у двух полусибсов из якутской семьи.

### Материалы и методы

#### Клинико-генетическое исследование семьи с синдромом Gusher

Клинико-генетическое исследование было проведено у четырёх членов якутской семьи: у двух пробандов (III:1 и III:2), их матери и у отца пробанда III:2. Фрагмент родословной представлен на рис. 1. Исследование включало в себя компьютерную томографию, аудиологический анализ, магнитно-резонансную томографию мостомозжечковых углов, а также компьютерную стабиллометрию.

#### Компьютерная томография пирамиды височной кости

Оценка состояния пирамиды височной кости была проведена на 4-срезовом компьютерном томографе «Somatom Sensation 4» (Siemens, Германия) в аксиальной проекции с толщиной томографического слоя 1 мм, шаг продвижения стола 1 мм, инкремент реконструкции 1 мм (программа InnerEarSpi), напряжение 120 кВ, сила тока 70 мА. При визуализации структур пирамиды височной кости использовали 2D изображения в нативных аксиальных плоскостях.

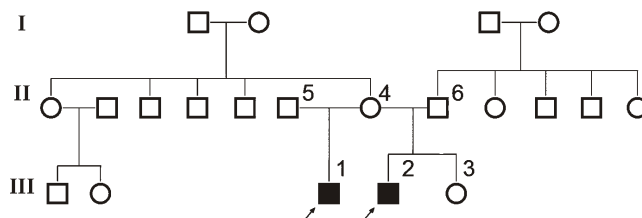


Рис. 1. Фрагмент родословной якутской семьи с X-сцепленной-рецессивной формой глухоты. Индивиды с потерей слуха выделены черным цветом, пробанды отмечены стрелками.

## Аудиологическое исследование

Тональная пороговая аудиометрия проводилась с помощью аудиометра «МАICO ST 20» (Германия) по воздушному проведению на частотах 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 кГц и по костному проведению на частотах 0,25, 0,5, 1,0, 4,0 кГц с шагом 5,0 дБ. Импедансометрия с ипсилатеральной рефлексометрией проводилась с использованием импедансометра «AA222» (Interacoustics, Дания). Степень потери слуха оценивалась по классификации, рекомендованной ВОЗ, по порогам слуха в речевом диапазоне частот 0,5, 1,0, 2,0 и 4,0 кГц (РДЧ<sub>0,5, 1,0, 2,0, 4,0 кГц</sub>): I степень — 20—40 дБ, II степень — 41—55 дБ, III степень — 56—70 дБ, IV степень — 71—90 дБ, глухота >90 дБ.

## Магнитно-резонансная томография мостомозжечковых углов

Состояние мостомозжечковых углов было оценено с помощью магнитно-резонансной томографии на магнитно-резонансном томографе «Magnetom Espree» (Siemens, Германия), последовательность 3d ciss, толщина среза 0,9 мм. При объемной визуализации области мостомозжечковых углов была использована аксиальная МР-реформация слэбом 20 мм.

## Компьютерная стабиллометрия

Для регистрации абсолютного и относительного перемещения проекции общего центра массы тела в положении «стоя» пациентам с выявленными аномалиями внутреннего уха и их родителям была проведена компьютерная стабиллометрия. Исследование функции равновесия проводили при помощи теста Ромберга на стабиллоплатформе «ST-150» (Биомера, Москва) в вертикальной стойке с европейской установкой «стоп» в положениях «стоя» с открытыми и закрытыми глазами.

## Молекулярно-генетический анализ

Ресеквенирование белок-кодирующей области гена *POU3F4*

Для молекулярно-генетического исследования были взяты образцы ДНК пяти членов семьи с синдромом Gusher: у двух пробандов (III:1 и III:2), их матери (II:4), сестры (III:5) и у отца пробанда III:2 (II:6), а также образцы ДНК 68 индивидов мужского пола из банка ДНК больных ЯНЦ КМП (г.Якутск), у которых не было выявлено мутаций в гене *GJB2*. Исследование было проведено на основе полного ресеквенирования белок-кодирующей области гена *POU3F4* (экзон 1). Амплификацию фрагментов, перекрывающих белок-кодирующую область гена *POU3F4* (экзон 1), проводили с помощью ПЦР на программируемом термоциклере («Bio-Rad», USA), с использованием олигонуклеотидных праймеров (табл. 1). Разделение продуктов ПЦР проводили в горизонтальных электрофорезных камерах (15 x 15 см) в 2,5%-ном агарозном геле. Визуализацию электрофореграмм проводили с помощью системы гель-видеоокументации «Bio-Rad» (USA). Определение нуклеотидной последовательности гена *POU3F4* в исследуемых образцах проводили на автоматическом секвенаторе «ABI Prism 3130XL» (Applied Biosystems, USA) с помощью набора реагентов BigDye® Terminator v3.1. Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA). Перед постановкой реакции секвенирования по Сэнгеру продукты ПЦР очищали от компонентов ПЦР на магнитных частицах AMPure XP. Невключившиеся флуоресцентные BigDye терминаторы удаляли гель-фильтрацией через колонку с сорбентом Sephadex G-50 DNA grade (GE Healthcare, Germany). Для просмотра и расшифровки секвенограмм использовали пакет компьютерных программ Chromas (Version 2:0) и Sequence analysis v5.4. Поиск мутаций проводили, сравнивая полученные секвенограммы ис-

Таблица 1

Последовательность праймеров, фланкирующих область гена *POU3F4*

| №  | Прямой праймер (F)<br>5'---3' | Обратный праймер (R)<br>5'---3'           | Температура<br>отжига (°C) | Размер<br>продукта (п.н.) |
|--|-------------------------------|---|----------------------------|---------------------------|
| Праймеры для ресеквенирования белок-кодирующего района гена <i>POU3F4</i>  |                               |   |                            |                           |
| 1  | F-5'-TCCGGAGCTTACCAGCCT-3'    | R5'-GAGGTCGCCTTCTTGCCT-3'                 | 62                         | 1065                      |
| 2  | F5'-TTGCCAGGATCACTCCGACGA-3'  | R5'-ATAACCAAGGCGCTGAAAGGT-3'              | 64                         | 1168                      |
| Последовательность праймеров для ПДРФ анализа мутации с.977G>A (p.Trp325Ter) с помощью эндонуклеазы рестрикции <i>HinfI</i> (G/ANTC) |                               |   |                            |                           |
| 3  | F5'-CTCCATCGAGGTGAGTGTC-3'    | F5'-GGAGCCAGGAATATGAGATCC-3'              | 58                         | 670                       |
|  | POU3F4-генотипы               | Ж: с.[=];[=]; М: с.[=];[0]                |                            | 510<br>161                |
|  |                               | Ж: с.[977G>A];[=]                         |                            | 510<br>161<br>126         |
|  |                               | Ж: с.[977G>A];[977G>A]; М: с.[977G>A];[0] |                            | 510<br>126                |
| Примечание. Ж — индивиды женского пола; М — индивиды мужского пола.  |                               |   |                            |                           |

следуемых фрагментов ДНК с референсной последовательностью гена *POU3F4* человека из базы данных Genbank (NCBI Reference Sequence: NG\_009936.2).

*Скрининг мутации с.977G>A (p.Trp325Ter) в гене POU3F4*

Молекулярно-генетический скрининг мутации с.977G>A проводили в контрольной выборке лиц женского пола с нормальным слухом из популяции якутов (n = 123) методом ПДРФ, с помощью эндонуклеазы рестрикции *HinfI*, по протоколу, рекомендованному производителем (ООО «СибЭнзим», г.Новосибирск). Продукты гидролиза разделялись в 3%-ном агарозном геле. Визуализация осуществлялась в УФ-свете, с помощью системы гель-видеодокументации «Bio-Rad» (USA).

*Этический контроль*

Обследования, предусмотренные рамками настоящей работы, проводились при письменном информированном согласии участников или их родителей. Данная научно-исследовательская работа была одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП (г.Якутск, протокол №16 от 16 апреля 2009 г.).

**Результаты**

*Обнаружение синдрома Gusher в якутской семье*

При проведении КТ-сканирования пирамиды височной кости у двух глухих индивидов III:1 и III:2 из якутской семьи были обнаружены идентичные анома-

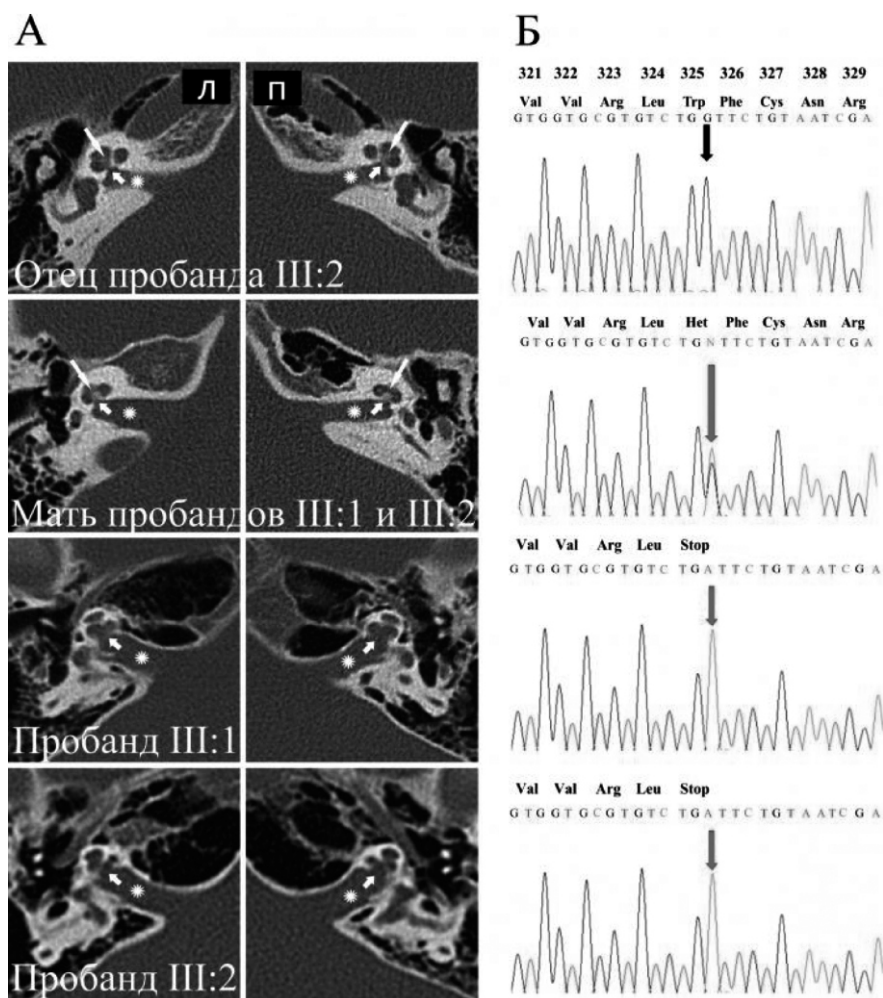


Рис. 2. Визуализация аномалий развития внутреннего уха с помощью компьютерной томографии пирамиды височной кости («штопорообразная» улитка: расширение внутреннего слухового прохода, отсутствие модиолуса) и идентификация нонсенс-мутации с.977G>A (p.Trp325Ter) в гене *POU3F4* методом прямого ресеквенирования по Сенгеру у двух полусибсов из якутской семьи в гемизиготном состоянии и у их матери — в гетерозиготном состоянии:

А — серия КТ-снимков пирамиды височной кости в аксиальной проекции (толщина томографического слоя 1 мм). Л — левая височная кость, П — правая височная кость. Короткая стрелка — улитка, длинная стрелка — модиолус, звездочка — внутренний слуховой проход; Б — секвеннограмма фрагмента гена *POU3F4* (сверху вниз): гемизигота по норме — с.[=];[0]; гетерозигота — с.[977G>A];[=]; гемизиготы по мутации с.[977G>A];[0].



лии внутреннего уха: деформация формы внутреннего слухового отверстия по типу цилиндрического и умеренное расширение внутреннего слухового прохода в латеральной части (справа до 0,7 см., слева — до 0,65 см) (рис. 2А). Оба пациента были мужского пола и имели статус «ребенок-инвалид» с диагнозом «врожденная тугоухость». Пациенты III:1 и III:2 с идентичными аномалиями височной кости являются полусибсами (имеют общую мать, но разных отцов). Со слов их матери, у нее самой, ее дочери, ее родителей, обоих мужей и у всех остальных, известных ей, членов семьи до третьего поколения слух был в пределах нормы. Учитывая, что у обоих ее сыновей от разных отцов наблюдается идентичная аномалия височной кости, можно предполо-

жить, что в данной семье наиболее вероятен X-сцепленный рецессивный тип передачи заболевания.

Всем доступным на момент исследования членам этой семьи (мать и отец пробанда III:2) также была выполнена компьютерная томография пирамиды височной кости (рис. 2А). У отца пробанда III:2 форма внутренних слуховых отверстий нормальная — конусообразная. Интересно отметить, что, у матери пробандов отмечается изменение формы внутреннего слухового прохода слева по цилиндрическому типу, как и у ее сыновей, однако, справа внутренний слуховой проход был сохранен, и имел конусообразную форму (рис. 2А). У обоих пробандов визуализируется отсутствие модиолуса (стержень улитки), за счет чего отмечается прямое сооб-

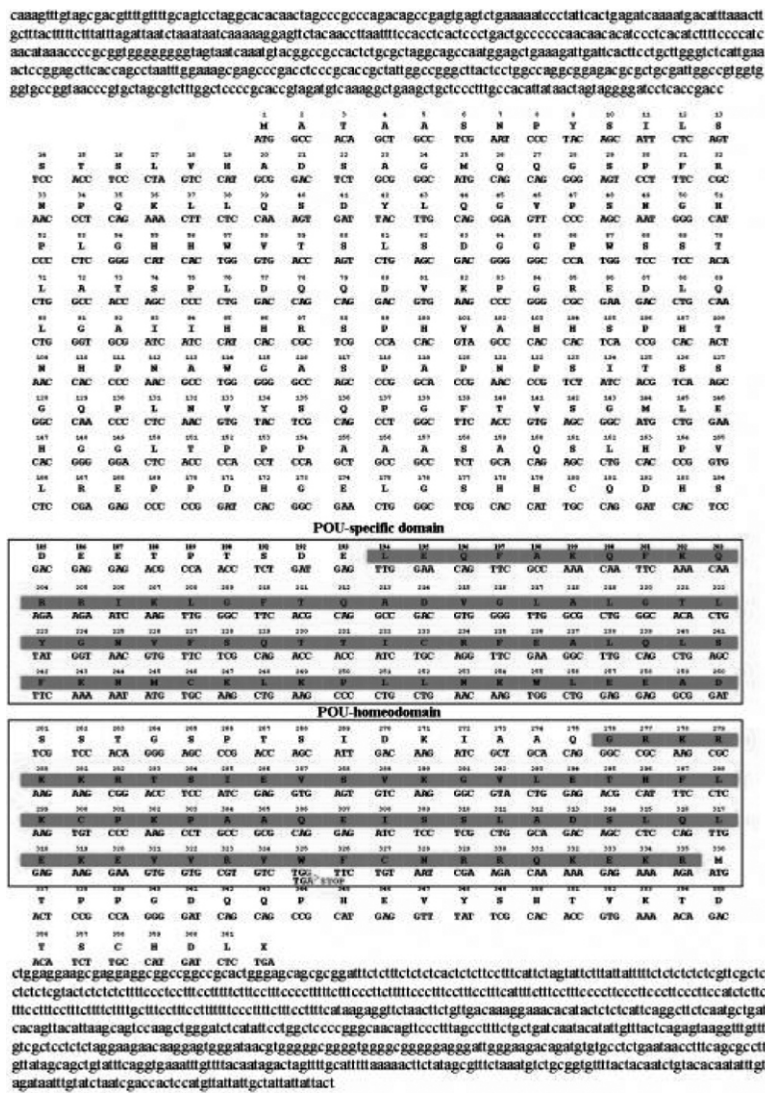


Рис. 3. Нуклеотидная последовательность гена POU3F4 человека (NCBI Reference Sequence: NG\_009936.2). Рисунок адаптирован из статьи [5]. Аминокислоты представлены по однобуквенной номенклатуре. Кодировочая область гена POU3F4 представлена в виде 361 триплета, кодирующих аминокислотную последовательность белка Brain 4. В блоках выделены функционально значимые центры белка: вверху обозначен POU-специфичный домен, внизу — POU-гомеодомен. Идентифицированная замена с.977G>A в 325 кодоне приводит к образованию преждевременного стоп-кодона UGA (Opal) (p.Trp325Ter).

шение внутреннего слухового отверстия и структур внутреннего уха. У матери и отца пробанда III:2 модиолюс сохранен. Форма улитки у пробандов деформирована за счет более углубленного контура завитков и умеренного расширения, наружный и задний полукружные каналы увеличены в размерах (рис. 2А).

**Поиск мутаций в гене *POU3F4* в семье с синдромом Gusher**

Учитывая, что выявленные аномалии височной кости являются характерными для синдрома Gusher и четко сегрегируют с потерей слуха (X-сцепленный рецессивный тип наследования), у обоих братьев (III:1 и III:2), их матери и сестры (III:5), а также у отца пробанда III:2,

был проведен молекулярно-генетический скрининг мутаций в гене *POU3F4*, известном в ассоциации с X-сцепленной формой глухоты (Xq21.1). Ресеквенирование белок-кодирующей области гена *POU3F4* (экзон 1) выявило замену с.977G>A в гемизиготном состоянии у обоих пробандов (III:1 и III:2), в гетерозиготном состоянии — у их матери и сестры (III:5), а у отца пробанда III:2 эта мутация не была идентифицирована (рис. 2Б).

Выявленная нами замена с.977G>A в 325 кодоне приводит к образованию стоп-кодона UGA (Opal) (р.Trp325Ter), что вызывает преждевременную терминацию в функционально значимом гомеодомене транскрипционного фактора POU4 (Brain 4) (рис. 3). Выравнивание в области 321—329 аминокислотной последова-

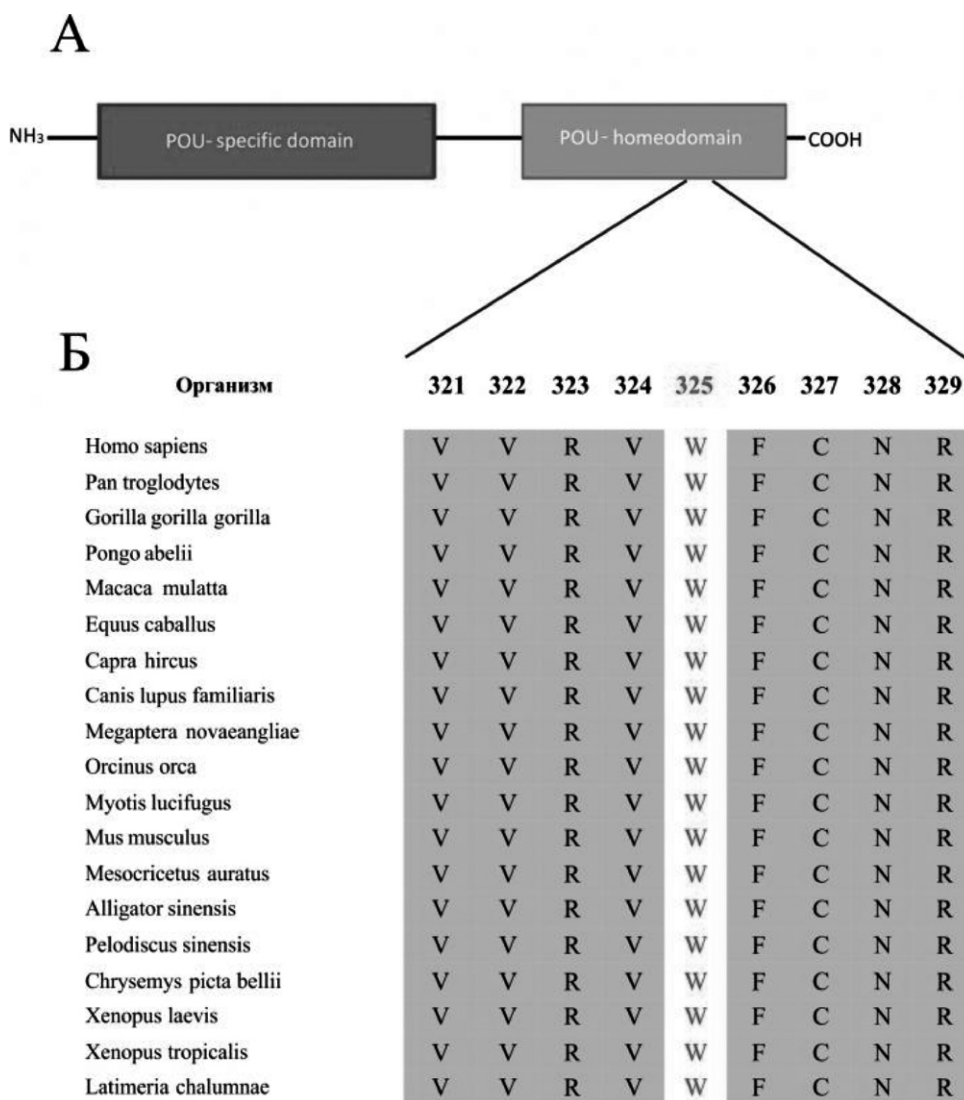


Рис. 4. Структура белка POU4 (Brain 4): А — схематическое представление структуры белка POU4; Б — выравнивание аминокислотных последовательностей в позициях 321—329 участка POU-гомеодомена белка Brain 4, кодируемого геном *POU3F4*, у 19 позвоночных организмов (NCBI, GenBank). Аминокислоты представлены по однобуквенной номенклатуре.

тельности у гомологов белка POU показало эволюционную консервативность этого участка полипептидной цепи среди позвоночных организмов (от кистеперой рыбы до человека), представленных в базе данных GenBank, NCBI (рис. 4).

**Результаты клинического исследования  
четырёх членов семьи с синдромом Gusher**

*Аудиологический анализ*

Пороговая тональная аудиометрия проводилась у всех обследованных двукратно с интервалом 12 мес. (рис. 5). У пробанда III:1 в возрасте 11 лет была выявлена двусторонняя сенсоневральная тугоухость: справа III

степени (65,0 дБ), слева IV степени (72,5 дБ), а в возрасте 12 лет — двусторонняя глухота с кондуктивным компонентом. У пробанда III:2 в возрасте 9 лет была выявлена двусторонняя смешанная тугоухость III степени (70,0 дБ), а в возрасте 10 лет — двусторонняя смешанная тугоухость IV степени (справа 78,0 дБ, слева 75,0 дБ). У отца пробанда III:2 в возрасте 32 года и 33 года был зарегистрирован нормальный слух. У матери пробандов I и II в возрасте 31 год и 32 года были зарегистрированы нормальные пороги слуха с некоторым отклонением по смешанному типу: справа на частотах 0,25–0,5 кГц — 20,0 дБ, на 6,0–8,0 кГц — 25,0 дБ, слева на 0,25–2,0 кГц — 20,0 дБ, на 6,0–8,0 кГц — 35,0–50,0 дБ (рис. 5Б). В целом, две аудиометрические сессии с интервалом

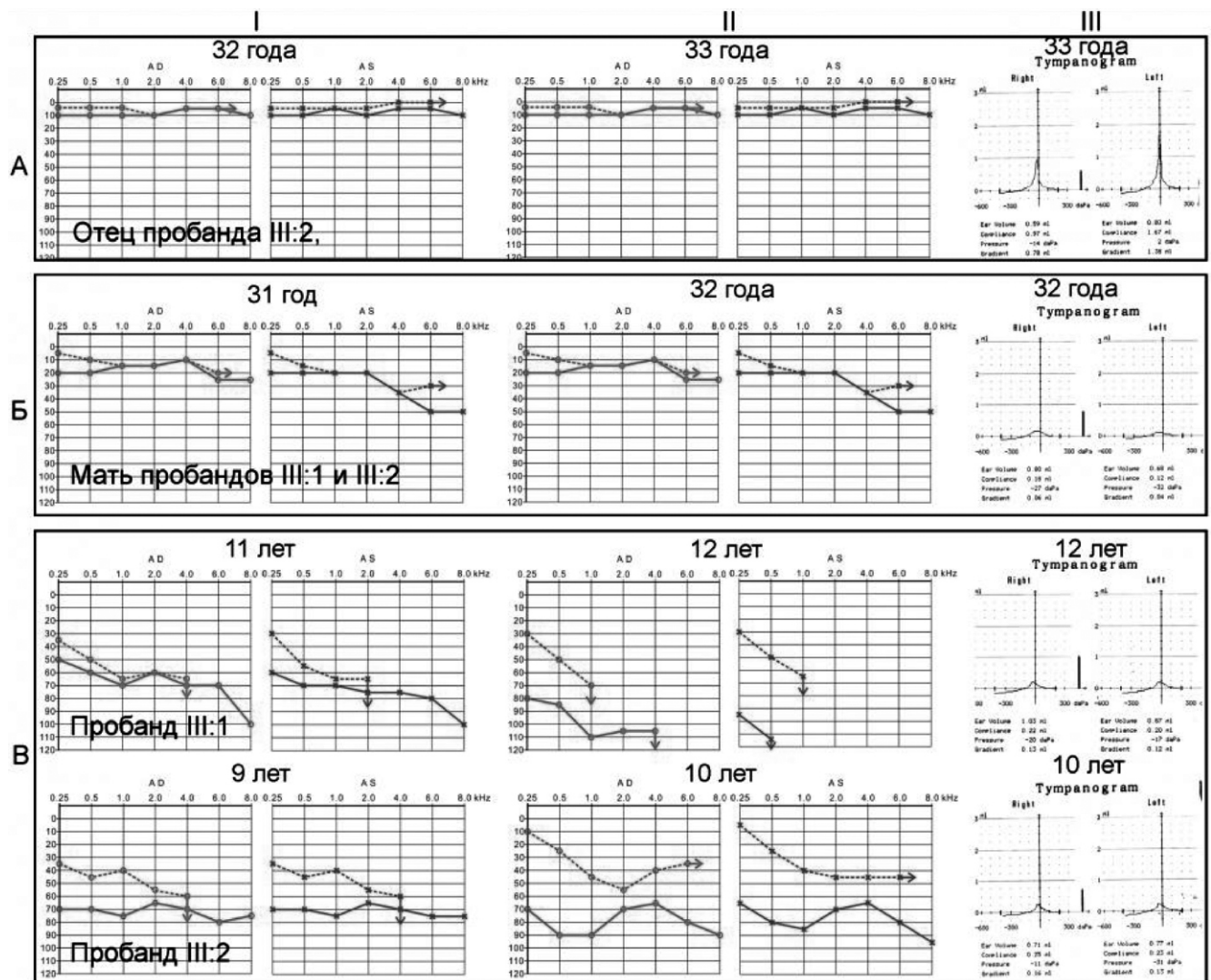


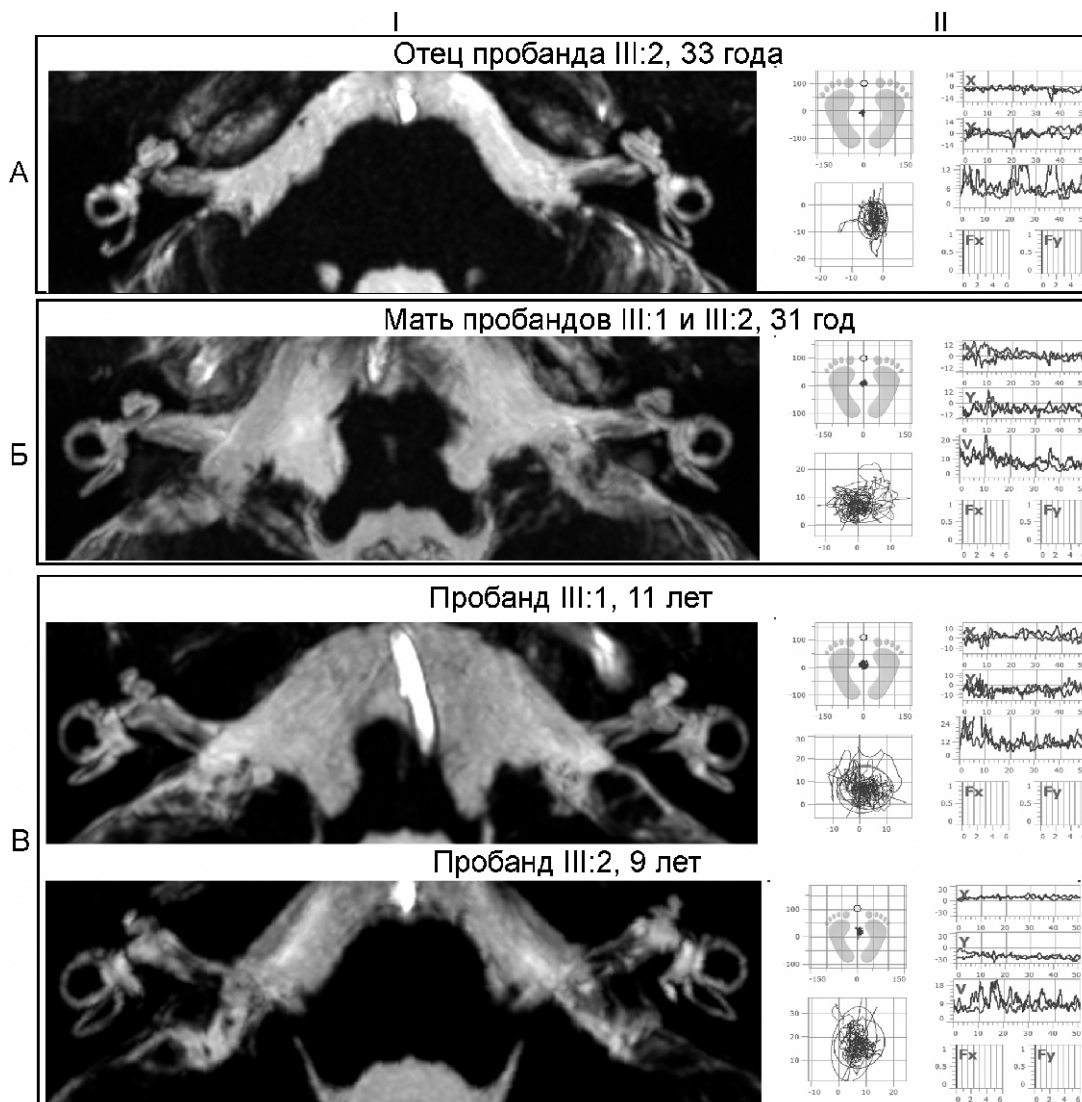
Рис. 5. Результаты аудиологического исследования состояния слуха у обследованных индивидов: А — отец пробанда III:2 (генотип с.[=];[0]), Б — мать пробандов III:1 и III:2 (генотип с.[977G>A];[=]), В — пробанды III:1 и III:2 (генотип с.[977G>A];[0]); I — данные аудиограммы (AD — правое ухо, AS — левое ухо), II — аудиограммы через 1 год (AD — правое ухо, AS — левое ухо), III — тимпаногаммы (Right — правое ухо, Left — левое ухо).



12 мес. показали значительную отрицательную динамику остроты слуха за счет костного и воздушного проведения у пробанда III:1 и незначительную за счет костного проведения — у пробанда III:2, статические пороги слуха у отца пробанда III:2 и матери пробандов. При этом у всех обследованных наблюдалась нормальная отоскопическая картина, однако, нормальный тип «А» тимпаногаммы был зарегистрирован только у отца пробанда III:2, а у матери и двух ее сыновей регистрировался тип «As» тимпаногаммы (повышение акустического импеданса).

### MPT головного мозга

Для получения более подробной информации о характере выявленной аномалии височной кости у членов наблюдаемой семьи была выполнена магнитно-резонансная томография (МРТ) области мосто-мозжечковых углов. На МРТ-снимках также подтверждается «штопорообразная» форма улитки у обоих пробандов (рис. 6, I.B). Кроме того, благодаря полученным МРТ-снимкам стало очевидным, что у обоих пробандов полукружные каналы увеличены в размерах с обеих сторон. У матери пробандов размеры полукружных каналов



**Рис. 6.** Визуализация области мостомозжечковых углов с помощью магнитно-резонансной томографии головного мозга (полукружных каналов) и результаты компьютерной стабилометрии. Справа (I) — серия снимков магнитно-резонансной томографии, MIP-реформация области мостомозжечковых углов. А — полукружные каналы у отца пробанда III:2 имеют нормальные размеры (не увеличены в диаметре); Б — полукружные каналы матери пробандов III:1 и III:2 (по сравнению с отцом пробанда III:2 увеличены в диаметре); В — полукружные каналы у пробандов III:1 и III:2 (увеличенные в диаметре). Слева (II) — результаты стабилометрии. У пробандов III:1 и III:2 выявлено умеренное снижение энергоэффективности стратегии поддержания основной стойки в положениях с открытыми и закрытыми глазами ( $E_{ог} = 4,67$  Дж;  $E_{зг} = 7,48$  Дж). Проприоцептивный контроль баланса легко превышает зрительный ( $QR = 74,8$ ).



также имеют относительно большие размеры (рис. 6 I.Б), чем у отца пробанда III:2 (рис. 6 IA), но существенно меньше, чем у самих пробандов (рис. 6B).

#### Компьютерная стабилметрия

Учитывая аномально крупные размеры полукружных каналов у пробандов, нами дополнительно была проведена компьютерная стабилметрия у всех членов исследуемой семьи. Регистрация абсолютного и относительного перемещения проекции общего центра массы тела в положении «стоя» показала, что оба исследуемых пробанда, впрочем, также как и их мать, показали худшие результаты, чем отец пробанда III:2, который продемонстрировал наилучший результат устойчивости в положении «стоя» (рис. 6, II). У матери пробандов выявлены легкие постуральные нарушения (рис. 6, II.Б). У пробандов III:1 и III:2 с аномалией развития внутреннего уха выявлены постуральные нарушения в виде умеренной вертикальной нестабильности в обеих фазах пробы Ромберга (рис. 6 II.В). У обоих пробандов была повышена скорость перемещения центра давления, увеличена площадь статокинезиограммы, снижена энергоэффективность баланса в положениях с открытыми и закрытыми глазами.

#### Ресеквенирование гена *POU3F4* у 68 *GJB2*-негативных пациентов с врожденной глухотой

Прямое ресеквенирование белок-кодирующей области гена *POU3F4* у 68 *GJB2*-негативных глухих пациентов мужского пола не выявило мутаций в гене *POU3F4* ни у одного из исследованных пациентов.

#### Скрининг на гетерозиготное носительство мутации *c.977G>A* (*p.Trp325Ter*) в гене *POU3F4* в популяции якутов

Для определения частоты гетерозиготного носительства идентифицированной мутации *c.977G>A* в популяции якутов нами был выполнен молекулярно-генетический скрининг этой мутации в контрольной выборке лиц женского пола с нормальным слухом ( $n = 123$ ). Электрофореграмма детекции мутации *c.977G>A* в 3%-ном агарозном геле с применением ПЦР-ПДФ анализа (гидролиз с помощью эндонуклеазы рестрикции *HinfI*) представлена на рис. 7. Мутация *c.977G>A* не была обнаружена в популяции якутов (0/123).

#### Обсуждение

Впервые в якутской семье с аномалиями внутреннего уха, характерными для синдрома Gusher (DFNX2, OMIM 304400), в гемизиготном состоянии выявлена ранее не описанная замена *c.977G>A* в гене *POU3F4* у двух полусибсов (пораженные индивиды), у их матери и сестры — в гетерозиготном состоянии (здоровые члены семьи). Ранее в доступной литературе о транзиции *c.977G>A* не сообщалось. В настоящее время в гене

*POU3F4* известно более 40 изменений нуклеотидной последовательности: 20 точковых миссенс- и нонсенс-мутаций, 8 внутригенных делеций, 1 дупликация, а также более 10 комплексных перестроек и протяженных делеций (The Human Gene Mutation Database — <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>), ассоциированных со смешанной и/или сенсоневральной потерей слуха и аномалиями развития внутреннего уха (табл. 2). В настоящем исследовании показано, что обнаруженная транзиция *c.977G>A* приводит к образованию преждевременного стоп-кодона (*p.Trp325Ter*) в эволюционно-консервативном, функционально значимом гомеодомене белка *POU4* (Brain 4) и сегрегирует с патологическими фенотипами в исследованной якутской семье по X-сцепленному рецессивному типу наследования.

Поскольку мутация *c.977G>A* была выявлена впервые, нами было проведено комплексное клинико-генетическое обследование четырех членов этой семьи, включая исследования, необходимые для диагностики аномалий внутреннего уха, а также дополнительные исследования, такие как магнитно-резонансная томография и компьютерная стабилметрия. Результаты комплексного клинико-генетического обследования у двух пробандов с гемизиготной мутацией *p.Trp325Ter* свидетельствуют о двустороннем смешанном характере потери слуха, флуктуирующем и/или прогрессирующем за счет кондуктивного компонента. При импедансометрии у обоих пробандов тимпанограмма имела тип As — повышение акустического импеданса, вероятно, за счет повышения сопротивления эндолимфы улитки.

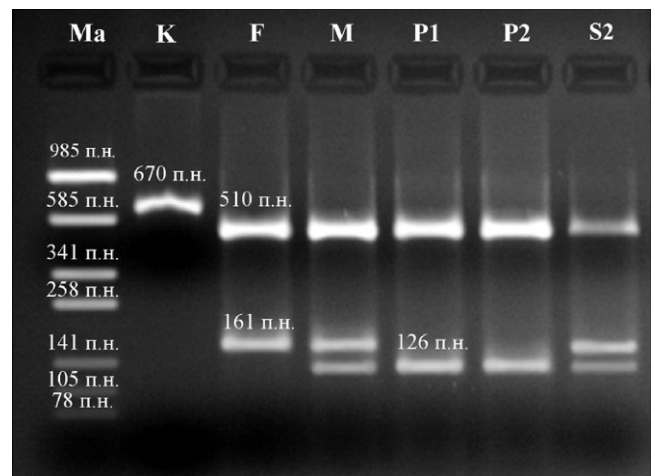


Рис. 7. Детекция мутации *c.977G>A* (*p.Trp325Ter*) методом ПДФ (эндонуклеаза рестрикции *HinfI*, 3%-ный агарозный гель): Ma — маркер молекулярного веса PUC19/*Kzo9I*, K — контрольный образец (ПЦР-продукт, не обработанный эндонуклеазой рестрикции *HinfI*) — 670 п.н.; F — отец пробанда III:2 (генотип *c.[=];[0]*) — 510 и 161 п.н.; M — мать пробандов III:1 и III:2 (генотип *c.[977G>A];[=]*) — 510 п.н., 161 п.н. и 126 п.н.; P1 и P2 — пробанды III:1 и III:2 (генотип *c.[977G>A];[0]*) — 510 п.н. и 126 п.н.; S — сестра пробандов III:1 и III:2 (генотип *c.[977G>A];[=]*) — 510 п.н., 161 п.н. и 126 п.н.

Мутации в гене *POU3F4*

| Миссенс/нонсенс-мутации |         |              |              |               |
|-------------------------|---------|--------------|--------------|---------------|
| №                       | Кодон   | Аминокислота | Номер кодона | Литература    |
| 1                       | TGG-TAG | Trp-Stop     | 67           | [3]           |
| 2                       | TCG-TAG | Ser-Stop     | 98           | [10]          |
| 3                       | CGA-TGA | Arg-Stop     | 167          | [22]          |
| 4                       | AAA-TAA | Lys-Stop     | 202          | [5]           |
| 5                       | TTG-TAG | Leu-Stop     | 208          | [18]          |
| 6                       | GGG-GAG | Gly-Glu      | 216          | [19]          |
| 7                       | TCG-TTG | Ser-Leu      | 228          | [27]          |
| 8                       | ACC-ATC | Thr-Ile      | 230          | [8]           |
| 9                       | CCT-TCT | Pro-Ser      | 303          | [3]           |
| 10                      | ATC-AAC | Ile-Asn      | 308          | [10]          |
| 11                      | TCC-CCC | Ser-Pro      | 309          | [28]          |
| 12                      | GCA-GTA | Ala-Val      | 312          | [2]           |
| 13                      | TTG-TGG | Leu-Trp      | 317          | [5]           |
| 14                      | CGT-GGT | Arg-Gly      | 323          | [3]           |
| 15                      | TGG-AGG | Trp-Arg      | 325          | [20]          |
|                         | TGG-TGA | Trp-Stop     | 325          | Данная работа |
| 16                      | AAT-ACT | Asn-Thr      | 328          | [3]           |
| 17                      | CGA-CCA | Arg-Pro      | 329          | [18]          |
| 18                      | CGA-GGA | Arg-Gly      | 329          | [8]           |
| 19                      | AGA-AGT | Arg-Ser      | 330          | [7]           |
| 20                      | AAA-GAA | Lys-Glu      | 334          | [5]           |

## Делеции

|   |                                  |      |
|---|----------------------------------|------|
| 1 | CGCCTGG^(115)GGGgCCAGCCCGGC      | [18] |
| 2 | ACGTCA^(127)AGCGgCCAACCCCTC      | [18] |
| 3 | CCAAA^(200)CAATTcaaaCAAAGAAGAA   | [5]  |
| 4 | CGCCAAA^(200)CAAttcaaaCAAAGAAGAA | [14] |
| 5 | AGGCC^(214)GACGTgGGGTTGGCGC      | [5]  |
| 6 | CATCGAG^(287)GTGagtgTCAAGGGCGT   | [2]  |
| 7 | GCATTC^(298)CTCaAGTGTCCCAA       | [5]  |
| 8 | AGGAG^(388)ATCTCctcGCTGGCAGAC    | [18] |

## Перекрестные inserции/дупликации

|   |  |     |
|---|--|-----|
| 1 | Дупликация 150 kb, 170 kb перед геном (described at genomic DNA level) | [5] |
|---|--|-----|

## Комплексные перестройки

|   |  |      |
|---|--|------|
| 1 | 100-300 kb 5' gene + 1 Mb proximal                     | [26] |
| 2 | 6 делеций: 2.6 kb, 6.5 kb, 2.7 kb, 6.5 kb, 7 kb, 4.4kb | [6]  |

## Перекрестные делеции

|    |  |      |
|----|--|------|
| 1  | -650 kb incl. entire gene (described at genomic DNA level)                       | [27] |
| 2  | 1-1.5Mb located 90kb upstream of gene (described at genomic DNA level)           | [23] |
| 3  | 120 kb, upstream of gene (described at genomic DNA level)                        | [6]  |
| 4  | 15-17Mb incl entire gene, RSK4 & several others (described at genomic DNA level) | [23] |
| 5  | 200 kb, upstream of gene (described at genomic DNA level)                        | [6]  |
| 6  | 220 kb, upstream of gene (described at genomic DNA level)                        | [6]  |
| 7  | 30 kb, upstream of gene (described at genomic DNA level)                         | [6]  |
| 8  | 3902 bp, upstream of gene (described at genomic DNA level)                       | [15] |
| 9  | 5.6Mb incl entire gene (described at genomic DNA level)                          | [10] |
| 10 | 8 kb, upstream of gene (described at genomic DNA level)                          | [6]  |
| 11 | entire gene (described at genomic DNA level)                                     | [6]  |

Примечание. Оригинальная номенклатура мутаций дана в соответствии с The Human Gene Mutation Database – <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>

Кроме того, у обоих братьев выявлены поструральные нарушения в виде умеренной вертикальной нестабильности в обеих фазах пробы Ромберга. Полученные данные стабилотрии свидетельствуют о нарушениях координации движений и, вероятно, объясняются аномалиями полукружных каналов, которые были зарегистрированы на КТ и МРТ-снимках.

У матери пробандов, гетерозиготной по мутации р.Trp325Ter, также выявлены изменения формы внутреннего слухового прохода: слева — цилиндрическая форма (справа конусообразная форма); худшие пороги слуха по смешанному типу (на лучше слышащее ухо — до 20,0 дБ на низких частотах и до 25,0 дБ — на высоких частотах); размеры полукружных каналов имели относительно большие размеры, чем, например, у отца пробанда III:2, у которого мутация р.Trp325Ter не было выявлена. Кроме того, у матери, также как и у пораженных сыновей, имелись легкие поструральные нарушения в обеих фазах пробы Ромберга и регистрировался тип тимпанограммы As. Полученные клинико-генетические характеристики подтверждают результаты ранее проведенных исследований о том, что клинические признаки синдрома Gusher могут проявляться и у гетерозигот по мутациям гена *POU3F4* [2, 17].

Учитывая, что для популяции якутов, в целом, характерен эффект основателя в распространении многих моногенных заболеваний, и в предположении, что синдром Gusher может присутствовать и у других якутских пациентов с врожденной глухотой, нами было проведено прямое ресеквенирование гена *POU3F4* у *GJB2*-негативных пациентов (не имеющих мутаций в гене *GJB2*) мужского пола и скрининг обнаруженной мутации р.Trp325Ter (методом ПЦР-ПДРФ) в контрольной выборке из популяции якутов. Результаты этого молекулярно-генетического анализа показали, что кроме обследованной якутской семьи, мутация р.Trp325Ter не была обнаружена ни в выборке *GJB2*-негативных пациентов с потерей слуха ( $n = 68$ ), ни в контрольной выборке индивидов женского пола из популяции якутов ( $n = 123$ ). Таким образом, наиболее вероятно, что выявленный случай синдрома Gusher в одной якутской семье обусловлен присутствием мутации р.Trp325Ter в гене *POU3F4*, возникшей в этой семье *de novo*.

### Список литературы

1. Barashkov N.A., Dzhemileva L.U., Fedorova S.A., Teryutin F.M., Posukh O.L., Fedotova E.E., Lobov S.L., Khusnutdinova E.K. Autosomal recessive deafness 1A (DFNB1A) in Yakut population isolate in Eastern Siberia: extensive accumulation of the splice site mutation IVS1+1G>A in *GJB2* gene as a result of founder effect // *J. Hum. Genet.* — 2011. — Sep. — Vol. 56(9). — P. 631–639. doi: 10.1038/jhg.2011.72. Epub 2011 Jul 21.
2. Bitner-Glindzicz M., Turmpenny P., Hoglund P., Kaariainen H., Sankila E.M., van der Maarel S.M., de Kok Y.J., Ropers H.H., Cremers F.P., Pembrey M. et al. Further mutations in Brain 4 (*POU3F4*) clarify the phenotype in the X-linked deafness, DFN3 // *Hum. Mol. Genet.* — 1995. — Aug. — Vol. 4(8). — P. 1467–1469.

3. Cremers F.P., Cremers C.W., Ropers H.H. The ins and outs of X-linked deafness type 3 // *Adv. Otorhinolaryngol.* — 2000. — Vol. 56. — P. 184–195.
4. Choi J.W., Min B., Kim A., Koo J.W., Kim C.S., Park W.Y., Chung J., Kim V., Ryu Y.J., Kim S.H., Chang S.O., Oh S.H., Choi B.Y. De Novo Large Genomic Deletions Involving *POU3F4* in Incomplete Partition Type III Inner Ear Anomaly in East Asian Populations and Implications for Genetic Counseling // *Otol. Neurotol.* — 2015. — Jan. — Vol. 36(1). — P. 184–190. doi: 10.1097/MAO.0000000000000343.
5. de Kok Y.J., van der Maarel S.M., Bitner-Glindzicz M., Huber I., Monaco A.P., Malcolm S., Pembrey M.E., Ropers H.H., Cremers F.P. Association between X-linked mixed deafness and mutations in the *POU* domain gene *POU3F4* // *Science.* — 1995. — Feb. 3. — Vol. 267(5198). — P. 685–688.
6. de Kok Y.J., Vossenaar E.R., Cremers C.W., Dahl N., Laporte J., Hu L.J., Lacombe D., Fischel-Ghodsian N., Friedman R.A., Parnes L.S., Thorpe P., Bitner-Glindzicz M., Pander H.J., Heilbronner H., Graveline J., den Dunnen J.T., Brunner H.G., Ropers H.H., Cremers F.P. Identification of a hot spot for microdeletions in patients with X-linked deafness type 3 (DFN3) 900 kb proximal to the DFN3 gene *POU3F4* // *Hum. Mol. Genet.* — 1996. — Sep. — Vol. 5(9). — P. 1229–1235.
7. de Kok Y.J., Cremers C.W., Ropers H.H., Bitner-Glindzicz M. The molecular basis of X-linked deafness type 3 (DFN3) in two sporadic cases: identification of a somatic mosaicism for a *POU3F4* missense mutation // *Hum. Mutat.* — 1997. — Vol. 10(3). — P. 207–211.
8. Friedman R.A., Bykhovskaya Y., Tu G., Talbot J.M., Wilson D.F., Parnes L.S., Fischel-Ghodsian N. Molecular analysis of the *POU3F4* gene in patients with clinical and radiographic evidence of X-linked mixed deafness with perilymphatic gusher // *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1997 Apr. — Vol. 106(4). — P. 320–325.
9. Marazita M.L., Ploughman L.M., Rawlings B., Remington E., Arnos K.S., Nance W.E. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population // *Am. J. Med. Genet.* — 1993. — Jun. 15. — Vol. 46(5). — P. 486–491.
10. Marlin S., Moizard M.P., David A., Chaissang N., Raynaud M., Jonard L., Feldmann D., Loundon N., Denoyelle F., Toutain A. Phenotype and genotype in females with *POU3F4* mutations // *Clin. Genet.* — 2009. — Dec. — Vol. 76(6). — P. 558–563. doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01215.x
11. Mehl A.L., Thomson V. The Colorado newborn hearing screening project, 1992–1999: on the threshold of effective population-based universal newborn hearing screening // *Pediatrics.* — 2002. — Jan. — Vol. 109(1). — E7.
12. Morton C.C., Nance W.E. Newborn hearing screening — silent revolution // *N. Engl. J. Med.* — 2006. — May 18. — Vol. 354(20). — P. 2151–2164.
13. Jackler R.K., Luxford W.M., House W.F. Congenital malformations of the inner ear: a classification based on embryogenesis // *Laryngoscope.* — 1987. — Mar. — Vol. 97(3 Pt 2 Suppl. 40). — P. 2–14.
14. Hagiwara H., Tamagawa Y., Kitamura K., Kodera K. A new mutation in the *POU3F4* gene in a Japanese family with X-linked mixed deafness (DFN3) // *Laryngoscope.* — 1998. — Oct. — Vol. 108(10). — P. 1544–1547.
15. Naranjo S., Voeseck K., de la Calle-Mustienes E., Robert-Moreno A., Kokotas H., Grigoriadou M., Economides J., Van Camp G., Hilgert N., Moreno F., Alsina B., Petersen M.B., Kremer H., Gomez-Skarmeta J.L. Multiple enhancers located in a 1-Mb region upstream of *POU3F4* promote expression during inner ear development and may be required for hearing // *Hum. Genet.* — 2010. — Oct. — Vol. 128(4). — P. 411–419. doi: 10.1007/s00439-010-0864-x. Epub 2010 Jul 29.
16. Nance W.E., Settleff R., McLeod A., Sweeney A., Cooper C., McConnell F. X-linked mixed deafness with congenital fixation of the stapedial footplate and perilymphatic gusher // *Birth Defects Orig. Artic. Ser.* — 1971. — Mar. — Vol. 07(4). — P. 64–69.
17. Lee H.K., Lee S.H., Lee K.Y., Lim E.J., Choi S.Y., Park R.K., Kim U.K. Novel *POU3F4* mutations and clinical features of DFN3 patients with cochlear implants // *Clin. Genet.* — 2009. — Jun. — Vol. 75(6). — P. 572–575. doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01181.x. Epub 2009 May 5.



18. Lee H.K., Song M.H., Kang M., Lee J.T., Kong K.A., Choi S.J., Lee K.Y., Venselaar H., Vriend G., Lee W.S., Park H.J., Kwon T.K., Bok J., Kim U.K. Clinical and molecular characterizations of novel POU3F4 mutations reveal that DFN3 is due to null function of POU3F4 protein // *Physiol. Genomics*. — 2009. — Nov. 6. — Vol. 39(3). — P. 195–201. doi: 10.1152/physiolgenomics.00100.2009. Epub. 2009. Aug. 11.
19. Li J., Cheng J., Lu Y., Lu Y., Chen A., Sun Y., Kang D., Zhang X., Dai P., Han D., Yuan H. Identification of a novel mutation in POU3F4 for prenatal diagnosis in a Chinese family with X-linked nonsyndromic hearing loss // *J. Genet. Genomics*. — 2010. — Dec. — Vol. 37(12). — P. 787–793. doi: 10.1016/S1673-8527(09)60096-5.
20. Schild C., Prera E., Lublinghoff N., Arndt S., Aschendorff A., Birkenhager R. Novel mutation in the homeobox domain of transcription factor POU3F4 associated with profound sensorineural hearing loss // *Otol. Neurotol.* — 2011. — Jun. — Vol. 32(4). — P. 690–694. doi: 10.1097/MAO.0b013e318210b749.
21. Shine I., Watson J.R. A new syndrome of sex-linked congenital conductive deafness. Presentation 132. Scientific Program // *The American Society of Human Genetics*. — Canada, 1967.
22. Stankovic K.M., Hennessey A.M., Herrmann B., Mankariou L.A. Cochlear implantation in children with congenital X-linked deafness due to novel mutations in POU3F4 gene // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* — 2010. — Dec. — Vol. 119(12). — P. 815–822.
23. Song M.H., Lee H.K., Choi J.Y., Kim S., Bok J., Kim U.K. Clinical evaluation of DFN3 patients with deletions in the POU3F4 locus and detection of carrier female using MLPA // *Clin. Genet.* 2010. — Dec. — Vol. 78(6). — P. 524–532. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01426.x.
24. Talbot J.M., Wilson D.F. Computed tomographic diagnosis of X-linked congenital mixed deafness, fixation of the stapedial footplate, and perilymphatic gusher // *Am. J. Otol.* — 1994. — Mar. — Vol. 15(2). — P. 177–182.
25. Olson N.R., Lehman R.H. Cerebracpinal fluid otorrhea and the congenitally fixed stapes // *The Laryngoscope*. — 1967. — P. 352–360.
26. Oh N., Kupka S., Mirghomizadeh F., Arold R., Zimmermann R., Blin N., Zenner H.P., Pfister M. [Clinical and molecular genetic analysis of monozygotic twins displaying stapes gusher syndrome (DFN3)] // *HNO*. — 2003. — Aug. — Vol. 51(8). — P. 629–633. Epub. 2003 Apr. 11.
27. Vore A.P., Chang E.H., Hoppe J.E., Butler M.G., Forrester S., Schneider M.C., Smith L.L., Burke D.W., Campbell C.A., Smith R.J. Deletion of and novel missense mutation in POU3F4 in 2 families segregating X-linked nonsyndromic deafness // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* — 2005. — Dec. — Vol. 131(12). — P. 1057–1063.
28. Wang Q.J., Li Q.Z., Rao S.Q., Zhao Y.L., Yuan H., Yang W.Y., Han D.Y., Shen Y. A novel mutation of POU3F4 causes congenital profound sensorineural hearing loss in a large Chinese family // *Laryngoscope*. — 2006. — Jun. — Vol. 116(6). — P. 944–950.

## Novel mutation p.Trp325Ter (c.977G>A) in the *POU3F4* gene in Yakut family (Eastern Siberia) with perilymphatic Gusher-deafness syndrome (DFNX2)

Barashkov N.A.<sup>1,2</sup>, Klarov L.A.<sup>1,3</sup>, Teryutin F.M.<sup>1,2</sup>, Solovyev A.V.<sup>1,2</sup>, Pshennikova V.G.<sup>1,2</sup>, Konnikova E.E.<sup>2,3</sup>, Nikolaeva K.Yu.<sup>2</sup>, Romanov G.P.<sup>1,2</sup>, Gotovtsev N.N.<sup>1,2</sup>, Savinova K.E.<sup>2</sup>, Kozhevnikov A.A.<sup>3</sup>, Vasilieva L.M.<sup>4</sup>, Fedotova E.E.<sup>4</sup>, Pak M.V.<sup>2,4</sup>, Lekhanova S.N.<sup>2</sup>, Luginov N.V.<sup>3</sup>, Morozov I.V.<sup>5,6</sup>, Bondar A.A.<sup>5</sup>, Solovyeva N.A.<sup>1,2</sup>, Rafailov A.M.<sup>2</sup>, Sazonov N.N.<sup>2</sup>, Alexeev A.N.<sup>7</sup>, Posukh O.L.<sup>6,8</sup>, Dzhemileva L.U.<sup>9</sup>, Khusnutdinova E.K.<sup>9,10</sup>, Fedorova S.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> — Yakut Scientific Center of Complex Medical Problems, 4, Sergelyakhskoe shosse, Yakutsk, Sakha Republic, 677010, Russian Federation, phone/fax: +7 (4112) 32-19-81; e-mail: barashkov2004@mail.ru

<sup>2</sup> — M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, 46, ul. Kulakovskogo, Yakutsk, Russian Federation, Sakha Republic, 677010, phone/fax: +7 (4112) 49-68-42; e-mail: nelloann@mail.ru

<sup>3</sup> — Republican Hospital # 2 — Center of Emergency Medicine, Ministry of Public Health of the Sakha Republic, 83 «A», ul. P.Alekseeva, Yakutsk, Sakha Republic, 677005, Russian Federation, phone/fax: +7 (4112) 43-29-53; e-mail: eizonix@gmail.ru

<sup>4</sup> — Republic hospital №1 — National Center of Medicine, Sergelyakhskoe shosse 4, Yakutsk, Sakha Republic, 677010, Russian Federation, phone/fax: +7 (4112) 32-19-81

<sup>5</sup> — Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8, prosp. Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russian Federation, phone/fax: +7 (383) 36-35-169; e-mail: mor@niboch.nsc.ru

<sup>6</sup> — Novosibirsk National Research State University, 2, ul. Pirogova, Novosibirsk-90, 633090, Russian Federation, phone/fax: +7 (383) 363-43-33; e-mail: posukh@bionet.nsc.ru

<sup>7</sup> — Institute of Humanitarian Research and Indigenous Peoples of the North, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 1, ul. Petrovskogo, Yakutsk, Sakha Republic, 677007, Russian Federation, phone/fax: +7 (4112) 39-00-36; e-mail: sekretar@igi.ysn.ru

<sup>8</sup> — Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8, prosp. Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russian Federation, phone/fax: +7-(383) 333-12-78; e-mail: posukh@bionet.nsc.ru

<sup>9</sup> — Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, 71, prosp. Octyabrya, Ufa, Bashkortostan Republic, 450054, Russian Federation, phone/fax: +7 (347) 235-60-88; e-mail: dzhemilev@mail.ru

<sup>10</sup> — Bashkir State University, 32, ul. Z.Validi, Ufa, Bashkortostan Republic, 450076, Russian Federation, phone/fax: +7 (347) 272-63-70, +7 (374) 229-96-16; e-mail: ekkh@anrb.ru

The proportion of genetic deafness with X-linked mode of inheritance (DFNX) is not more than 1-2%. For the first time, we revealed novel transition c.977G>A in the *POU3F4* gene in hemizygous state in two deaf half-brothers from Yakut family with identical abnormalities of inner ear specific for the perilymphatic Gusher-deafness syndrome (DFNX2, MIM304400), and in heterozygous state in their healthy mother and sister. Transition c.977G>A leads to stop codon (p.Trp325Ter) in the POU-homeodomain of human transcription factor (Brain 4) and segregates with hearing loss in studied Yakut family according to recessive X-linked pattern of inheritance. Computed tomography examination of both half-brothers demonstrated an abnormal dilatation of the internal acoustic canal (IAC) as well as an abnormally wide communication between the IAC and the inner ear compartment. Segregation of inner ear malformations and novel mutation c.977G>A (p.Trp325Ter) in the *POU3F4* gene with deafness in studied Yakut family confirmed association of the *POU3F4* gene with clinical phenotype of the Gusher syndrome. Molecular genetic screening showed that mutation p.Trp325Ter was not detected in other *GJB2*-negative patients with hearing loss ( $n = 68$ ) nor in the control sample of females from the Yakut population ( $n = 123$ ). Most likely that the Gusher syndrome in studied Yakut family was caused by novel *de novo* mutation p.Trp325Ter in the *POU3F4* gene.

**Key words:**