

# Анализ спектра и частоты *GJB2*-мутаций у пациентов с врождёнными нарушениями слуха в Республике Саха (Якутия)\*

Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Терютин Ф.М.<sup>1,2</sup>, Соловьев А.В.<sup>2</sup>, Кларов Л.А.<sup>3,4</sup>, Романов Г.П.<sup>2</sup>, Готовцев Н.Н.<sup>2</sup>, Саввинова К.Е.<sup>2,10</sup>, Кожевников А.А.<sup>5</sup>, Сидорова О.Г.<sup>6</sup>, Васильева Л.М.<sup>7</sup>, Федотова Э.Е.<sup>7</sup>, Морозов И.В.<sup>8,13</sup>, Бондарь А.А.<sup>8</sup>, Соловьева Н.А.<sup>1,2</sup>, Кононова С.К.<sup>1,2</sup>, Рафаилов А.М.<sup>9</sup>, Сазонов Н.Н.<sup>10</sup>, Алексеев А.Н.<sup>11</sup>, Посух О.Л.<sup>12,13</sup>, Джемилева Л.У.<sup>14</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>14,15</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

- 1 — Лаборатория молекулярной генетики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», 677010, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, Сергеляхское ш., д. 4, тел./факс: 8-(4112) 32-19-81; e-mail: psennikovavera@mail.ru
- 2 — Научно-исследовательская лаборатория молекулярной биологии, Институт естественных наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», 677010, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Кулаковского, д. 46, тел.: 8-(4112) 49-68-42; e-mail: nelloann@mail.ru
- 3 — Отдел лучевой диагностики, Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи», 677005, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. П.Алексеева, д. 83 «А», тел.: 8-(4112) 43-29-53; e-mail: eizonix@gmail.ru
- 4 — Кафедра внутренних болезней и общей врачебной практики (семейная медицина) Факультета последипломного обучения врачей, Медицинский институт, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», 677016, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Ойунского, д. 27, тел.: 8-(4112) 36-34-89; e-mail: leoapros@mail.ru
- 5 — Республиканский центр профессиональной патологии, Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи», 677005, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. П.Алексеева, д. 83 «А», тел.: 8-(4112) 43-02-24; e-mail: yrcpp@mail.ru
- 6 — Центр охраны здоровья семьи и репродукции, Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Медицинский Центр города Якутска», 677000, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Бестужева Марлинского, д. 1, тел.: 8-(4112) 21-04-80; e-mail: mcy\_2013@mail.ru
- 7 — Республиканский Сурдологический центр, Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», 677010, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, Сергеляхское ш., д. 4, тел.: 8-(4112) 39-53-20; e-mail: sakhasurdo@mail.ru
- 8 — Центр коллективного пользования «Геномика», Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, г.Новосибирск, пр-т Лаврентьева, д. 8, тел.: 8-(383) 36-35-169; e-mail: mor@niboch.nsc.ru, alex.bondar@mail.ru
- 9 — Кафедра биологии, Институт естественных наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», 677010, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Кулаковского, д. 48, тел.: 8-(4112) 49-68-42; e-mail: archinay@mail.ru
- 10 — Кафедра биохимии и биотехнологии, Институт естественных наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», 677010, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Кулаковского, д. 48, тел.: 8-(4112) 49-68-42; e-mail: nn.sazonov@s-vfu.ru
- 11 — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера Сибирского отделения Российской академии наук, 677007, Республика Саха (Якутия), г.Якутск, ул. Петровского, д. 1, тел./факс: 8-(4112) 39-00-36; e-mail: secretar@igi.ysn.ru
- 12 — Лаборатория молекулярной генетики человека, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г.Новосибирск, 630090, пр-т Лаврентьева, д. 10, тел.: 8-(383) 363-49-44\*3413, факс: 8-(383) 333-12-78; e-mail: posukh@bionet.nsc.ru
- 13 — 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
- 14 — Лаборатория молекулярной генетики человека, 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
- 15 — Кафедра генетики и фундаментальной медицины, 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@anrb.ru

\* Авторы выражают искреннюю признательность всем участникам исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 14-04-9010\_Бел\_А, 14-04-01741\_А, государственного задания 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 Ил Дархана Республики Саха (Якутия) им. А.И. Иванова для молодых учёных, специалистов и студентов за 2015 г. (медицинские науки) РГ №79 от 06.02.2015.

Мутации в гене *GJB2*, кодирующем белок коннексин 26 (Cx26), признаны основной причиной врождённых нарушений слуха. В гене *GJB2* известно более 300 различных аллельных вариантов, при этом спектр и частота наиболее частых рецессивных мутаций этого гена существенно различается в разных этнических группах. До настоящего времени территория Восточной Сибири (Республика Саха) не была полностью охарактеризована по спектру и частотам мутаций в экзонах 1 и 2 гена *GJB2* на представительных выборках. Впервые было проведено полное ресеквенирование промоторной и белок-кодирующей областей гена *GJB2* у 580 человек, проживающих в Якутии, из которых 393 — пациенты с врождёнными нарушениями слуха (363 неродственных) и 187 — индивиды с нормальным слухом. В исследованной выборке ( $n = 580$ ) было выявлено 12 аллельных вариантов гена *GJB2*, из которых 8 являются рецессивными мутациями, 4 — вариантами не имеющими клинического значения. Всего в выборке пациентов был выявлен 21 различный *GJB2*-генотип, из которых 10 с двумя рецессивными мутациями были обнаружены у 192 пациентов (48,85%). Вклад мутаций в гене *GJB2* в этиологию потери слуха у населения Якутии (48,85%), является максимальным среди всех ранее изученных регионов Азии. В общей выборке пациентов с нарушениями слуха наиболее распространены три мутации: с.-23+1G>A, с.35delG и с.109G>A. Детекция только этих трёх мутаций гена *GJB2* позволяет обнаружить до 99% мутантных хромосом, встречающихся в Якутии, что может являться основой для разработки эффективных регионально-адаптированных методов рутинной ДНК-диагностики врождённых нарушений слуха. Средняя территориальная распространённость врождённой потери слуха, обусловленной двумя рецессивными *GJB2*-мутациями, в Якутии составила  $2,00 \pm 0,14$  на 10 000 населения с локальными «очагами накопления» в Нюрбинском ( $9,50 \pm 1,94$  на 10 000) и Чурапчинском ( $7,84 \pm 1,96$  на 10 000) районах (улусах). Таким образом, полученные результаты являются актуальными для проведения медико-профилактических мероприятий по предупреждению и снижению частоты врождённых нарушений слуха в Республике Саха (Якутия).

**Ключевые слова:** врождённые нарушения слуха, аутосомно-рецессивная глухота типа 1А, рецессивные мутации в гене *GJB2*, Республика Саха (Якутия)

### Введение

Мутации в гене *GJB2* (gap junction protein beta 2, 13q12.11), кодирующем белок коннексин 26 (Cx26), признаны основной причиной врождённой и доречевой несиндромальной тугоухости во многих странах мира [36]. На сегодняшний день в гене *GJB2* известно более 300 различных аллельных вариантов (265 миссенс/нонсенс замен, 3 мутации сайта сплайсинга, 2 мутации в регуляторной области, 51 делеция, 18 инсерций, 14 протяжённых делеций и инсерций (The Human Gene Mutation Database — <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>). Кроме того, известно, что у представителей различных этнических групп спектр и частота наиболее распространённых рецессивных мутаций гена *GJB2* имеют существенные различия [13].

К настоящему времени регионы Европы [3—6, 17, 19—21, 25, 29, 30, 32, 35, 41, 42, 44, 46—48, 53, 55, 58, 63], Азии [1, 7, 16, 28, 31, 33, 38, 40, 43, 45, 57, 60—62], Ближнего Востока [8, 11, 12, 18, 37, 52, 56], Северной Америки [23, 26], Южной Америки [14, 22, 34, 39], Австралии [15] и частично африканского континента [24, 50, 51, 59] охарактеризованы по спектру и частотам мутаций гена *GJB2*. Однако многие из этих исследований были выполнены без стратификации по этнической принадлежности и месту рождения/проживания обследуемых. Более того, большинство ранних исследований не включали в алгоритм молекулярно-генетического исследования некодирующую область гена *GJB2* (экзон 1 и фланкирующие последовательности). Недавно проведённые исследования в Монголии на обширной выборке пациентов ( $n = 534$ ) подтверждают необходимость проведения секвенирования гена *GJB2* в полном объёме [57]. Так, в результате скрининга не только белок-кодирующей (экзон 2), но и некодирующей области гена *GJB2* (экзон 1) среди выявленных 20 различных аллельных вариантов, наиболее распространёнными мутациями оказались с.-23+1G>A

(IVS1+1G>A) (экзон 1) и с.235delC (экзон 2), с аллельной частотой 3,5% и 1,5% соответственно [57].

Ранее молекулярно-генетические исследования причин несиндромальной сенсоневральной тугоухости в Республике Саха (Якутия) были направлены на поиск мутаций только в белок-кодирующей области гена *GJB2* (экзон 2). В результате, вклад выявленных мутаций в гене *GJB2* (экзон 2) в потерю слуха составил: 50,1% — у пациентов европеоидного происхождения; 7,2% — у пациентов якутов [2]. Низкий вклад мутаций кодирующего района гена *GJB2* в развитие несиндромальной сенсоневральной тугоухости в популяции якутов определил дальнейший алгоритм поиска мутаций в первом экзоне гена *GJB2*. Таким образом, была идентифицирована мутация донорного сайта сплайсинга с.-23+1G>A в гомозиготном состоянии у 70 пациентов с врождённой потерей слуха, что позволило считать Восточную Сибирь (Якутия) как самый крупный мировой кластер накопления данной мутации (16,2 на 100 000 чел.) [9]. Тем не менее, до настоящего времени спектр и вклад мутаций экзонов 1 и 2 гена *GJB2* у пациентов с врождённой потерей слуха в различных этнических группах и районах Якутии не был полностью охарактеризован на более представительных выборках.

В России, с её многонациональным составом населения, изучение специфики мутационного спектра гена *GJB2* и вклада разных мутаций в этиологию нарушений слуха, с учётом территориальной распространённости, является актуальным для разработки регионально адаптированных методов ДНК-диагностики врождённых нарушений слуха. Известно, что при выявлении двух рецессивных мутаций в гене *GJB2* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии может быть подтвержден диагноз «аутосомно-рецессивная глухота типа 1А (ARF 1А)» (OMIM 220290 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Следо-

вательно, доля пациентов, имеющих такие *GJB2*-генотипы среди обследованных, определяет вклад гена *GJB2* в этиологию потери слуха в популяции или регионе.

Целью настоящей работы является определение спектра и частот мутаций гена *GJB2* на масштабной выборке пациентов ( $n = 393$ ) с врождёнными нарушениями слуха, с использованием ресеквенирования промоторной (экзон 1 и фланкирующие области) и белок-кодирующей (экзон 2) областей, с последующим анализом распространённости в Республике Саха (Якутия) ауто-сомно-рецессивной глухоты типа 1A (АРГ 1A), обусловленной мутациями в гене *GJB2*.

**Материал и методы**

*Характеристика выборки пациентов с врождёнными нарушениями слуха*

Использованная для данного исследования коллекция образцов геномной ДНК пациентов с врождёнными нарушениями слуха была собрана в 2005—2010 гг., и является дополнением к ранее исследованным выборкам пациентов [2, 9]. Выборка пациентов была составлена из 393 индивидов из 363 неродственных семей, из них 196 пациентов (185 неродственных) были направлены из медико-генетической консультации Республиканской

больницы №1 — Национального Центра медицины Министерства Здравоохранения РС(Я) с диагнозом *нейросенсорная тугоухость*. Остальные 109 (96 неродственных) и 88 индивидов (82 неродственных) с различной степенью потери слуха были учащимися специализированных (коррекционных) общеобразовательных школ-интернатов I вида для глухих и II вида для слабослышащих детей (г.Якутск, 2010 г.) соответственно.

В общую выборку включены пациенты различного этнического происхождения: якуты — 75,3% ( $n = 296$ ), русские — 12,9% ( $n = 51$ ), представители других национальностей, а также потомки от межэтнических браков (метисы) — 11,7% ( $n = 46$ ) (рис. 1). Сведения об этнической принадлежности большинства пациентов были получены преимущественно до трёх поколений.

*Контрольная группа индивидов с нормальным слухом*

Контрольная группа была представлена 187 индивидами с нормальным слухом из популяционных выборок якутов и русских. Контрольную выборку якутов составили 107 индивидов (рис. 1). Для формирования популяционной выборки русских были получены анонимизированные образцы геномной ДНК 80 индивидов из Банка ДНК ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» (г.Якутск).

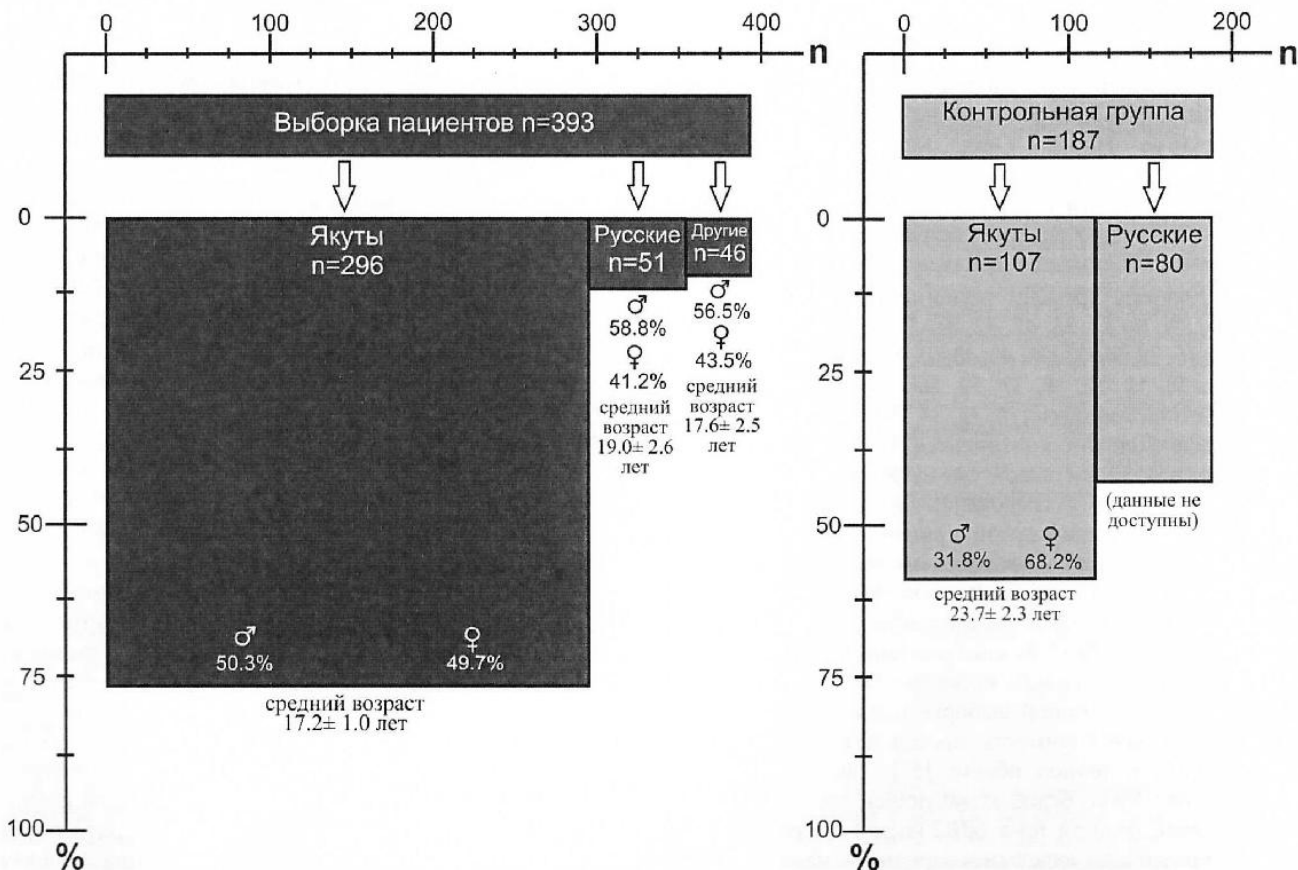


Рис. 1. Характеристика выборок пациентов с нарушениями слуха и индивидов с нормальным слухом; n — количество индивидов.



*Методы молекулярно-генетического анализа*

Образцы геномной ДНК были экстрагированы из лейкоцитов периферической крови фенол-хлороформным методом. Амплификацию фрагментов гена *GJB2*, включающих экзон 1 и экзон 2 гена *GJB2* с фланкирующими областями проводили методом ПЦР, с использованием праймеров:

5'-CCGGGAAGCTCTGAGGAC-3',  
 5'-GCAACCGTCTGGGTCTC-3' [52] для амплификации экзона 1 и 5'-TCGGCCCCAGTGGTACAG-3',  
 5'-CTGGGCAATGCGTTAAACTGG-3' [26, 27] для амплификации экзона 2. Анализ продуктов ПЦР проводили электрофорезом (использовали горизонтальные электрофорезные камеры 15 x 15 см) в 4%-ном агарозном геле. Визуализацию гелей после электрофореза проводили с использованием системы гель-видеоокументации («Bio-Rad» США). Амплифицированные фрагменты очищали от компонентов ПЦР на магнитных частицах AMPure XP и проводили реакции секвенирования по Сэнгеру с использованием BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA). Невключившиеся флуоресцентные BigDye терминаторы удаляли путём гель-фильтрации через колонку с сорбентом Sephadex G-50 DNA grade (GE Healthcare, Germany). Секвенирование фрагментов гена *GJB2* проводили на автоматическом геномном анализаторе ABI Prism 3130XL (Applied Biosystems, USA).

Для анализа секвеннограмм использовали программы Sequence analysis v.5.4 и Chromas v 2.0. Поиск мутаций проводили, сравнивая полученные секвеннограммы исследуемых фрагментов ДНК с референсными последовательностями гена *GJB2* NM\_004004 (GenBank — <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>).

*Эпидемиологические данные*

Республика Саха (Якутия) является самым крупным субъектом Российской Федерации, расположенным в северо-восточной части Сибири, общей площадью 3103,2 тыс. км<sup>2</sup>. Республика включает в себя 36 муниципальных образований: 34 муниципальных района (улуса) и два городских округа (ГО «Якутск», ГО «Жа-тай»).

Данные об этническом составе и численности населения каждого муниципального образования получены на основе информации территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Республике Саха (Якутия) (<http://sakha.gks.ru>). По данным Всероссийской переписи населения 2010 г., общая численность населения Республики составляла 958 528 чел. (64,1% — городское население) с плотностью — 0,31 чел./км<sup>2</sup>. Этнический состав: якуты — 48,6%, русские — 36,9%, украинцы — 2,1%, эвенки — 2,1%, эвены — 1,5%.

В выборке представлены пациенты из 30 различных районов (улусов) Республики. На момент проведения исследований, не было зарегистрировано пациентов с врождёнными нарушениями слуха в Нижнеколымском, Эвено-Бытантайском национальном, Аллахов-

ском, Усть-Янском, Анабарском национальном (долгано-эвенкийский) и Мирнинском районах (улусах) общей площадью 1111,1 тыс. км<sup>2</sup> и численностью населения 98,1 тыс. чел.

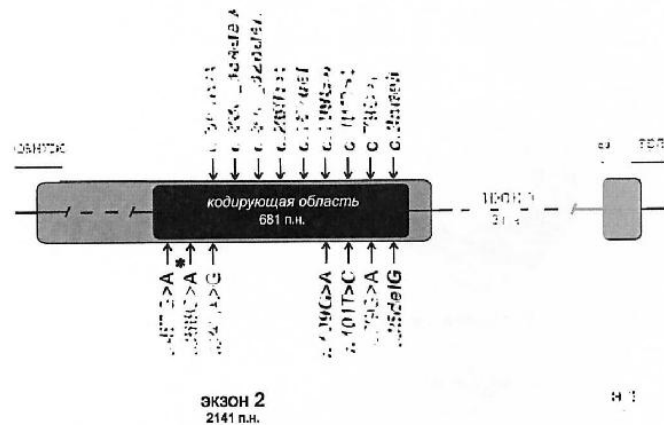
Территориальная распространённость АРГ 1А, обусловленной двумя рецессивными *GJB2*-мутациями, в районах (улусах) была рассчитана на 10 000 чел. (расчёт произведён только для 22 муниципальных образований с населением более 10 000 чел.), а также на общую численность населения.

*Статистический анализ*

Статистические расчёты проводили с использованием компьютерных программ MedStat, BioStat (версия 3.03) (McCraw-Hill, Inc. 1993) и Sampling (любезно предоставлена V.Macauley и адаптирована M. Metspalu). Для сравнения частот генотипов и аллельных вариантов гена *GJB2* в выборках пациентов и в контрольных группах использовали критерий  $\chi^2$  и точный критерий Фишера (статистически значимым считалось значение при уровне  $p < 0,05$ ).

*Этический контроль*

Обследования, предусмотренные данной научно-исследовательской работой, проводились после информированного письменного согласия участников или их родителей (законных представителей). Научно-исследовательская работа одобрена локальным комитетом по био-медицинской этике при ЯНЦ КМП (г.Якутск, протокол №16 от 16 апреля 2009 г.).



**Результаты**

*Спектр выявленных аллельных вариантов гена GJB2 (экзон 1 и экзон 2)*

В результате определения нуклеотидной последовательности 1-го и 2-го экзонов гена *GJB2* у 393 пациентов и 187 индивидов с нормальным слухом было обнаружено 12 аллельных вариантов гена *GJB2*, из которых 8 являются рецессивными мутациями, ассоциированными с нарушениями слуха, остальные — вариантами не имеющими клинического значения (The Human Gene Mutation Database — <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) (рис. 2). Все выявленные аллельные варианты были обнаружены в белок-кодирующей области (экзон 2) гена *GJB2*, за исключением мутации с.-23+1G>A, которая была обнаружена в сайте сплайсинга интронной области, прилежащей к экзону 1 гена *GJB2* (рис. 2).

*Частоты GJB2-генотипов*

*в исследованной выборке пациентов*

В результате поиска мутаций в экзонах 1 и 2 гена *GJB2* в выборке пациентов (n = 393) был идентифицирован 21 различный *GJB2*-генотип, из которых 10 генотипов были «патогенными» (присутствие двух рецессивных мутаций гена *GJB2* в гомозиготном, или в компаунд-гетерозиготном состоянии). Среди «патогенных» генотипов наиболее частыми оказались 4 генотипа: с.[-23+1G>A];[-23+1G>A] (37,91%), с.[-23+1G>A];[35delG] (4,58%), с.[35delG];[35delG] (3,56%) и с.[109G>A];[109G>A] (1,01%) (табл. 1).

У пациентов якутов самым частым генотипом был с.[-23+1G>A];[-23+1G>A] (47,97%), вторым по частоте — с.[-23+1G>A];[35delG] (2,70%), третьим — с.[109G>A];[109G>A] (1,35%). У русских пациентов наиболее частыми были с.[35delG];[35delG] (17,64%),

Таблица 1

**Частота GJB2-генотипов у пациентов разного этнического происхождения**

№	Генотипы гена <i>GJB2</i>		Пациенты якуты		Пациенты русские		Пациенты других национальностей и метисы		Общая выборка пациентов	
	Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность	n = 296	Частота (%)	n = 51	Частота (%)	n = 46	Частота (%)	n = 393	Частота (%)
<i>GJB2</i> -генотипы с двумя рецессивными мутациями										
1	с.[-23+1G>A];[-23+1G>A]	[Мутация сплайсинга мРНК]; [Мутация сплайсинга мРНК]	142	47,97	2	3,92	5	10,86	149	37,91
2	с.[-23+1G>A];[35delG]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Gly12ValfsX2]	8	2,70	2	3,92	8	17,39	18	4,58
3	с.[-23+1G>A];[109G>A]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Val37Ile]	2	0,67	—	—	—	—	2	0,50
4	с.[-23+1G>A];[167delT]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Leu56ArgfsX26]	—	—	1	1,96	—	—	1	0,25
5	с.[-23+1G>A];[313_326del14]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Arg104GfsX6]	—	—	1	1,96	—	—	1	0,25
6	с.[-23+1G>A];[333_334delAA]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Ile111IlefsX2]	—	—	1	1,96	—	—	1	0,25
7	с.[35delG];[35delG]	р.[Gly12ValfsX2];[Gly12ValfsX2]	—	—	9	17,64	5	10,86	14	3,56
8	с.[35delG];[109G>A]	р.[Gly12ValfsX2];[Val37Ile]	1	0,33	—	—	—	—	1	0,25
9	с.[35delG];[313_326del14]	р.[Gly12ValfsX2];[Arg104fsX6]	—	—	1	1,96	—	—	1	0,25
10	с.[109G>A];[109G>A]	р.[Val37Ile];[Val37Ile]	4	1,35	—	—	—	—	4	1,01
Всего			157	53,04	17	33,33	18	39,13	192	48,85
<i>GJB2</i> -генотипы с одной рецессивной мутацией										
1	с.[-23+1G>A];[wt]	[Мутация сплайсинга мРНК];[wt]	17	5,74	—	—	1	2,17	18	4,58
2	с.[-23+1G>A];[79G>A]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Val27Ile]	5	1,68	—	—	1	2,17	6	1,52
3	с.[-23+1G>A];[79G>A(;)341A>G]	[Мутация сплайсинга мРНК];р.[Val27Ile(;)Glu114Gly]	4	1,35	—	—	—	—	4	1,01
4	с.[35delG];[wt]	р.[Gly12ValfsX2];[wt]	—	—	2	2,92	1	2,17	3	0,76
5	с.[101T>C];[wt]	р.[Met34Thr];[wt]	1	0,33	2	2,92	—	—	3	0,76
6	с.[109G>A];[wt]	р.[Val37Ile];[wt]	2	0,67	1	1,96	—	—	3	0,76
7	с.[79G>A];[269T>C]	р.[Val27Ile];[Ile90Pro]	1	0,33	—	—	—	—	1	0,25
Всего			30	10,13	5	9,80	3	6,52	38	9,66
<i>GJB2</i> -генотипы с вариантами не имеющими клинического значения										
1	с.[79G>A];[wt]	р.[Val27Ile];[wt]	21	7,09	1	1,96	5	10,86	27	6,87
2	с.[79G>A];[79G>A]	р.[Val27Ile];[Val27Ile]	4	1,35	—	—	1	2,17	5	1,27
3	с.[79G>A];[79G>A(;)341A>G]	р.[Val27Ile];[Val27Ile(;)Glu114Gly]	1	0,33	—	—	—	—	1	0,25
4	с.[79G>A(;)341A>G];[wt]	р.[Val27Ile(;)Glu114Gly];[wt]	4	1,35	1	1,96	—	—	5	1,27
21	Всего		30	10,13	2	2,92	6	13,04	40	10,17
<i>GJB2</i> -генотип [wt];[wt]			79	26,68	27	52,94	19	41,30	125	31,80

Примечание. Вычисление частот *GJB2*-генотипов проводилось в общей выборке пациентов (включая родственных пациентов)

с. $[-23+1G>A];[35delG]$  (3,92%) и с. $[-23+1G>A];[-23+1G>A]$  (3,92%). У пациентов другой этнической принадлежности и потомков межэтнических браков (метисы) выявлены три генотипа, из которых чаще встречался с. $[-23+1G>A];[35delG]$  с частотой 17,39%, а генотипы с. $[-23+1G>A];[-23+1G>A]$  и с. $[35delG];[35delG]$  обнаружены с одинаковой частотой 10,86% (табл. 1).

В общей выборке пациентов, семь различных генотипов с одной рецессивной мутацией гена *GJB2*, в сочетании с вариантом, не имеющим клинического значения или «диким» типом последовательности гена *GJB2*, были обнаружены у 38 (9,66%) пациентов. Четыре различных *GJB2*-генотипа с вариантами, не имеющими клинического значения, были обнаружены у 40 пациентов (10,17%). У 125 пациентов (31,80%) изменений в нуклеотидной последовательности гена *GJB2* не было идентифицировано (табл. 1).

**Вклад мутаций в гене *GJB2* в этиологию потери слуха в исследованной выборке пациентов**

У 192 из 393 обследованных пациентов были обнаружены генотипы с двумя рецессивными мутациями гена *GJB2* (в гомозиготном, или в компаунд-гетерозиготном состоянии). Таким образом, доля данных пациентов (48,85%) определила вклад мутаций экзонов 1 и 2 гена *GJB2* в потерю слуха у пациентов из Якутии (табл. 1).

При распределении пациентов по этнической принадлежности было показано, что вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха у якутов составил 53,04%. Спектр рецессивных мутаций гена *GJB2* у якутов был представлен тремя мутациями: с. $-23+1G>A$ , с. $35delG$ , с. $109G>A$ . Самой частой из них оказалась мутация с. $-23+1G>A$  (93,63% всех мутантных хромосом) (рис. 3 А).

У русских пациентов вклад мутаций гена *GJB2* в потерю слуха составил 33,33%. В целом, спектр мутаций у русских пациентов оказался шире, чем у пациентов-якутов и был представлен пятью различными мутациями: с. $-23+1G>A$ , с. $35delG$ , с. $313_326del14$ , с. $333_334delAA$  и с. $167delT$ . Наиболее частой мутацией среди них была с. $35delG$  (61,76% всех мутантных хромосом) (рис. 3 Б).

У пациентов другой этнической принадлежности и метисов доля трёх генотипов с двумя рецессивными мутациями гена *GJB2*, которые были представлены сочетаниями двух мутаций с. $35delG$  и с. $-23+1G>A$  (рис. 3 В), составила 39,13%.

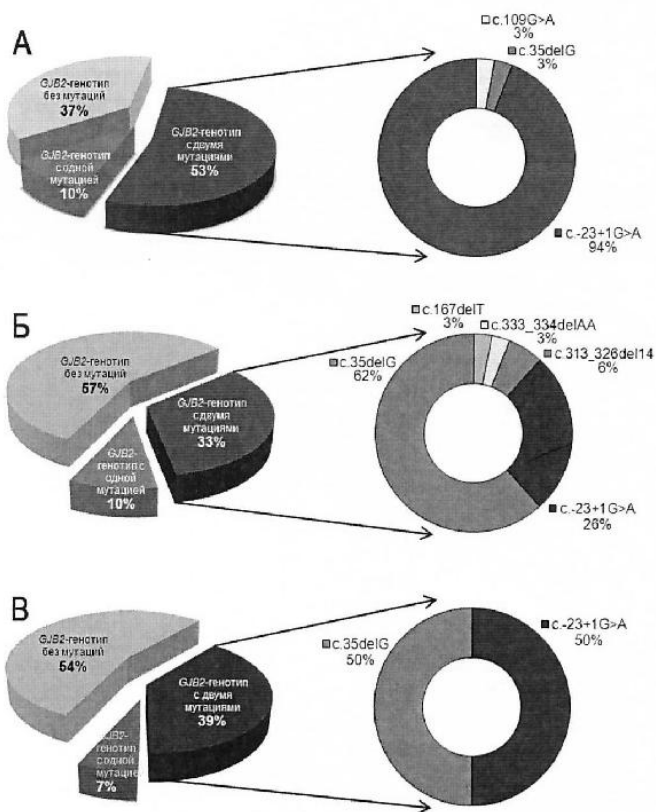
**Частоты аллельных вариантов гена *GJB2* в исследованной выборке пациентов**

Анализ частот аллельных вариантов гена *GJB2* проводился в выборке неродственных пациентов (363 из 393 обследованных индивидов). Доля аллелей с рецессивными мутациями гена *GJB2* составила 51,10% от числа исследованных хромосом неродственных пациентов, среди них было выявлено три наиболее распространённые (аллельная частота >1%) мутации: с. $-23+1G>A$  (42,28%), с. $35delG$  (5,92%) и с. $109G>A$  (1,92%). При распределении

неродственных пациентов по этнической принадлежности оказалось, что среди пациентов-якутов наиболее частой мутацией была с. $-23+1G>A$  (51,82%), второй по частоте оказалась мутация с. $109G>A$  (2,37%), третьей — с. $35delG$  (1,64%). Среди русских пациентов наиболее часто встречались мутации с. $35delG$  (22,34%) и с. $-23+1G>A$  (5,31%). У пациентов другой этнической принадлежности были обнаружены только две мутации с. $-23+1G>A$  (21,42%) и с. $35delG$  (15,47%) (табл. 2).

На *GJB2*-варианты не имеющие клинического значения в выборке неродственных пациентов (n = 363) пришлось 7,30% всех исследованных хромосом пациентов (табл. 2).

Мутации с. $-23+1G>A$  и с. $35delG$  среди пациентов встречались достоверно чаще, чем в контрольных группах (p<0,001), что подтверждает их известную ассоциацию с потерей слуха (табл. 2).



**Рис. 3.** Доля выявленных *GJB2*-генотипов у пациентов различного этнического происхождения (диаграмма слева) и соотношение частот *GJB2*-мутаций, обнаруженных в этнических группах пациентов с потерей слуха, обусловленной двумя мутациями гена *GJB2* (диаграмма справа):

А — группа пациентов-якутов (n = 296);  
 Б — группа русских пациентов (n = 51);  
 В — группа пациентов другой этнической принадлежности, а также потомков от межэтнических браков (метисы) (n = 46).  
 Доля пациентов с двумя рецессивными мутациями гена *GJB2* показана чёрным цветом; доля пациентов с одной рецессивной мутацией гена *GJB2* показана тёмно-серым цветом; доля пациентов без мутаций гена *GJB2* показана светло-серым цветом.



Следует отметить, что замены с.[79G>A(;)341A>G] и с.[79G>A(;)368C>A] преположительно находятся в *цис*-положении, что ранее было показано в исследованиях других азиатских популяций [43, 54, 57]. Кроме того, в нашем исследовании у одного индивида из контрольной выборки замена с.79G>A была обнаружена в гомозиготном состоянии в сочетании с с.368G>A, что, вероятно, свидетельствует в пользу того, что варианты с.79G>A и с.368G>A также находятся в *цис*-положении. Исходя из этого, расчёт частот аллельного варианта гена *GJB2* с.[79G>A(;)341A>G] не выявил статистически значимых различий в сравниваемых группах, а аллельный вариант с.[79G>A(;)368C>A] был обнаружен только в контрольной группе якутов с частотой 1,40% (табл. 2).

*Частоты гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена GJB2 в популяциях якутов и русских*

Частота гетерозиготного носительства рецессивных мутаций с.-23+1G>A и с.109G>A, обнаруженных в контрольной выборке якутов, составила 0,112 (ДИ 0,066—0,186) и 0,028 (ДИ 0,01—0,079) соответственно. Частота гетерозиготного носительства мутации с.35delG в контрольной выборке русских составила — 0,025 (ДИ 0,008—0,086) (табл. 3).

*Территориальная распространённость АРГ 1А в Республике Саха (Якутия)*

Для молекулярно-эпидемиологической оценки распространённости АРГ 1А на территории Республики Саха (Якутия), все пациенты (независимо от этнической принадлежности) с наличием двух рецессивных *GJB2*-мутаций были стратифицированы в соответствии с указанными ими местами рождения по муниципальным образованиям (городской округ, район). Средняя территориальная распространённость АРГ 1А составила 2,00 ± 0,14 на 10 000 населения и была зарегистрирована в 30 районах (улусах) Республики Саха Якутия (табл. 4).

Был проведён анализ распространённости наиболее частых *GJB2*-генотипов с.[-23+1G>A];[-23+1G>A] и с.[35delG];[35delG], выявленных среди пациентов якутского и русского этнического происхождения. Данный анализ даёт возможность выявить «локальные очаги» накопления АРГ 1А, обусловленной частыми *GJB2*-генотипами в Якутии, где проживает в основном якутское (49%) и русское (37%) население (рис. 4).

Таблица 2

**Частота аллельных вариантов гена *GJB2* у пациентов разного этнического происхождения и в контрольных группах якутов и русских**

№	Аллельные варианты гена <i>GJB2</i>		Пациенты якуты, n = 274		Контрольная группа (якуты), n = 107		$\chi^2$	p	Пациенты русские, n = 47		Контрольная группа (русские), n = 80		$\chi^2$	p	Пациенты других национ. и метисы**, n = 42		Всего пациентов, n = 363	
	Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность	n = 548 хромосом	АЧ (%)	n = 214 хромосом	АЧ (%)			n = 94 хромосомы	АЧ (%)	n = 160 хромосом	АЧ (%)			n = 84 хромосомы	АЧ (%)	n = 726 хромосом	АЧ (%)
1	с.-23+1G>A	Мутация сплайсинга мРНК	284	51,82	12	5,60	138,38	<0,001	5	5,31	—	—	8,68	<0,01	18	21,42	307	42,28
2	с.35delG	p.Gly12ValfsX2	9	1,64	—	—	3,56	>0,05	21	22,34	2	1,25	31,98	<0,001	13	15,47	43	5,92
3	с.101T>C	p.Met34Thr	1	0,18	1	0,46	0,48	>0,05	1	1,06	2	1,25	0,02	>0,05	—	—	2	0,27
3	с.109G>A	p.Val37Ile	13	2,37	3	1,40	0,17	>0,05	1	1,06	—	—	1,71	>0,05	—	—	14	1,92
4	с.167delT	p.Leu56ArgfsX26	—	—	—	—	—	—	1	1,06	—	—	1,71	>0,05	—	—	1	0,13
5	с.269T>C	p.Ile90Pro	1	0,18	—	—	0,39	>0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0,13
6	с.313_326del14	p.Arg104fsX6	—	—	—	—	—	—	2	2,12	—	—	3,34	>0,05	—	—	2	0,27
7	с.333_334delAA	p.Ile111IlefsX2	—	—	—	—	—	—	1	1,06	—	—	1,71	>0,05	—	—	1	0,13
Всего мутаций			308	56,20	16	7,47	149,51	<0,001	32	34,04	4	2,50	48,43	<0,001	31	39,90	371	51,10
1	с.79G>A	p.Val27Ile	34	6,20	7	3,27	2,60	>0,05	1	1,06	—	—	1,71	>0,05	8	9,52	43	5,92
2	с.[79G>A(;) 341A>G]*	p.[Val27Ile(;) Glu114Gly]*	9	1,64	5	2,33	0,41	>0,05	1	1,06	—	—	1,71	>0,05	—	—	10	1,37
3	с.[79G>A(;) 368C>A]*	p.[Val27Ile(;) Thr123Asn]*	—	—	3	1,40	7,71	<0,01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	с.457G>A	p.Val153Ile	—	—	—	—	—	—	—	—	1	0,62	0,59	>0,05	—	—	—	—
Всего вариантов, не имеющих клинического значения			43	7,84	15	7,00	0,15	>0,05	2	2,12	1	0,62	0,59	>0,05	8	9,52	53	7,30
Всего wt			197	35,94	183	85,51	—	—	60	63,82	155	96,87	—	—	45	53,57	302	41,59

Примечание. Вычисление частот *GJB2*-аллелей проводилось в выборке неродственных пациентов; Жирным шрифтом выделены частоты *GJB2*-аллелей, статистически значимо различающиеся в выборке пациентов и контрольной выборке; АЧ — аллельная частота; wt — дикий тип (норма); \* — вероятно, находятся в *цис*-положении на одной хромосоме; \*\* — в группу включены пациенты, не являющиеся якутами или русскими, а также потомки от межэтнических браков

Таблица 3

Частота гетерозиготного носительства *GJB2*-мутаций в популяциях якутов и русских (контрольные группы)

Гетерозиготные <i>GJB2</i> -мутации		Контрольная группа (якуты)		ДИ	Контрольная группа (якуты) [10]		ДИ	Контрольная группа (русские)		ДИ
Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность	n = 107	Частота		n = 350			n = 80	Частота	
c.-23+1G>A	Мутация сплайсинга мРНК	12	0,112	(0,066—0,186)	36	0,102	(0,075—0,139)	—	—	—
c.35delG	p.Gly12ValfsX2	—	—	—	—	—	—	2	0,025	(0,008—0,086)
c.109G>A	p.Val37Ile	3	0,028	(0,01—0,079)	—	—	—	—	—	—
Всего		15	0,140	(0,087—0,219)	36	0,102	(0,075—0,139)	2	0,025	(0,008—0,086)

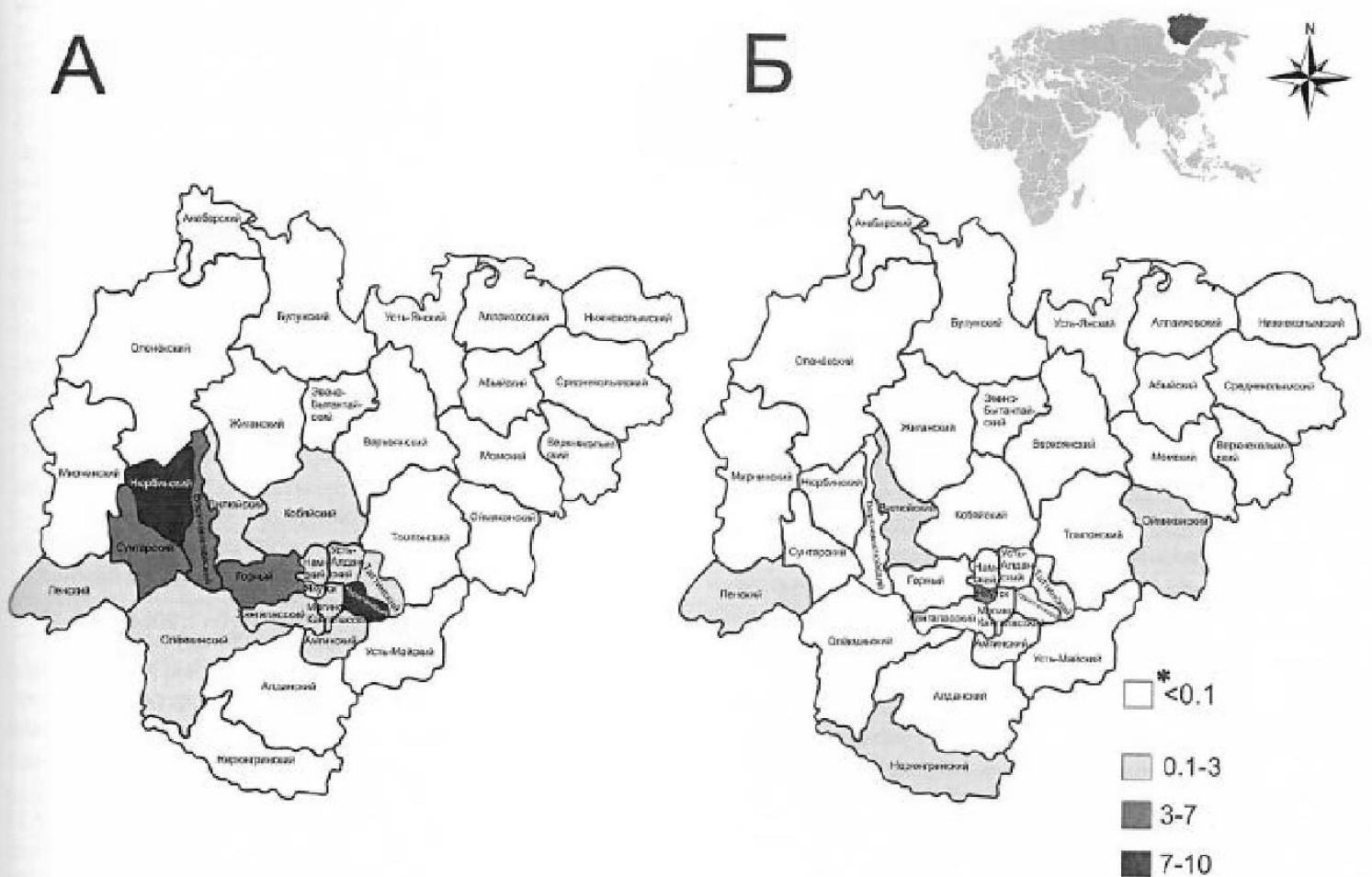


Рис. 4. Территориальная распространённость АРГ 1А, обусловленной наиболее частыми мутациями гена *GJB2*, в Республике Саха (Якутия):

А — распространённость АРГ 1А, обусловленной мутацией c.-23+1G>A, на 10000 населения;

Б — распространённость АРГ 1А, обусловленной мутацией c.35delG, на 10 000 населения.

\* — распространённость АРГ 1А обусловленной мутациями c.-23+1G>A или c.35delG, составляет менее 0,1 на 10 000 населения (расчёт произведён только в районах с населением более 10 000 чел.).



Территориальная распространённость АРГ 1А, обусловленной наличием двух рецессивных мутаций гена *GJB2*, в Республике Саха (Якутия)

№	Муниципальные образования (городской округ, район)	Численность населения по данным ВПН-2010 (на 14 октября 2010 г.)	Плотность населения, чел./км <sup>2</sup>	Число пациентов с <i>GJB2</i> -мутациями	Распространённость АРГ 1А, обусловленной <i>GJB2</i> -мутациями в районе на 10 тыс. чел. (на общую численность населения)
1	г.Якутск (городской округ)	286 160	79,48	52	1,81 ± 0,25 (1:5503)
2	пгт. Жатай (городской округ)	9504	0,30	3	—
3	Намский	23 198	1,94	5	2,15 ± 0,96 (1:4639)
4	Хангаласский	34 052	1,37	10	2,93 ± 0,92 (1:3405)
5	Мегино-Кангаласский	31 278	2,67	6	1,91 ± 0,78 (1:5213)
6	Амгинский	17 183	0,59	4	2,32 ± 1,16 (1:4295)
7	Чурапчинский	20 387	1,61	16	7,84 ± 1,96 (1:1274)
8	Таттинский	17 242	0,90	3	1,73 ± 1,00 (1:5747)
9	Усть-Алданский	22 155	1,21	5	2,25 ± 1,00 (1:4431)
10	Горный	11 706	0,25	6	5,12 ± 2,09 (1:1951)
11	Вилуйский	25 222	0,45	7	2,77 ± 1,04 (1:3603)
12	Верхневилуйский	21 661	0,50	13	6,00 ± 1,66 (1:1666)
13	Сунтарский	25 140	0,43	12	4,77 ± 1,37 (1:2095)
14	Нюрбинский	25 258	0,42	24	9,50 ± 1,94 (1:1052)
15	Кобяйский	13 680	0,12	2	1,46 ± 1,03 (1:6840)
16	Томпонский	14 099	0,10	1	0,70 ± 0,70 (1:14099)
17	Оймяконский	10 109	0,10	1	0,98 ± 0,98 (1:10109)
18	Момский	4452	0,04	1	—
19	Верхнеколымский	4723	0,06	3	—
20	Среднеколымский	7897	0,06	2	—
21	Нижнеколымский	4664	0,05	—	—
22	Жиганский национальный	4296	0,03	2	—
23	Верхоянский	12 815	0,06	2	1,56 ± 1,06 (1:64075)
24	Эвено-Бытантайский национальный	2867	0,05	—	—
25	Оленекский эвенкийский национальный	4127	0,01	1	—
26	Абыйский	4425	0,06	1	—
27	Аллаиховский	3050	0,02	—	—
28	Усть-Янский	8056	0,06	—	—
29	Булунский	9054	0,04	1	1,10 ± 1,10 (1:9054)
30	Анабарский национальный (долгано-эвенкийский)	3501	0,06	—	—
31	Усть-Майский	8629	0,09	1	—
32	Алданский	42 632	0,27	2	0,46 ± 0,32 (1:21316)
33	Нерюнгринский	82 766	0,88	1	0,12 ± 0,12 (1:82766)
34	Олекминский	26 785	0,16	2	0,74 ± 0,52 (1:13392)
35	Ленский	39 765	0,51	3	0,75 ± 0,43 (1:13255)
36	Мирнинский	75 990	0,45	—	—
ВСЕГО		958 528	0,31	192	2,00 ± 0,14 (1:4992)

Примечание. В таблице использованы данные Интернет-портала территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Республике Саха (Якутия) (<http://sakha.gks.ru>). Расчеты распространённости АРГ 1А произведены для муниципальных образований с населением больше 10 000 чел.

Наибольшая распространённость АРГ 1А, обусловленной *GJB2*-генотипом с.[-23+1G>A];[-23+1G>A], была зарегистрирована на территории Нюрбинского ( $9,50 \pm 1,94$ ) и Чурапчинского ( $7,84 \pm 1,96$ ) районов (рис. 4 А). Случаи потери слуха, обусловленные *GJB2*-генотипом с.[35delG];[35delG], были зарегистрированы в пяти отдалённых друг от друга крупных муниципальных образованиях, с наибольшей распространённостью ( $3,49 \pm 1,10$ ) в городском округе «г.Якутск» (рис. 4 Б).

### Обсуждение

Впервые на территории Восточной Сибири (Республика Саха) с использованием ресеквенирования промоторной (экзон 1 и фланкирующие области) и белок-кодирующей областей гена *GJB2* были определены спектр и частоты *GJB2*-мутаций на масштабной выборке пациентов с врождёнными нарушениями слуха.

Вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха у больных из Якутии составил 48,85% (192 из 393 обследованных больных). Мы провели сравнительный анализ вклада мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха в различных популяциях Азии. Ранее проведённые исследования показали, что вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха в ряде стран Азии более низкий, чем в странах Европы и США. Так, минимальный вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха был показан в Монголии ( $n = 534$ ) — 4,5% [57], Японии ( $n = 1511$ ) — 7,52% [60], Таиланде ( $n = 166$ ) — 8,4% [61] и Республике Корея ( $n = 147$ ) — 8,2% [40]. Более весомый вклад мутаций гена *GJB2* в потерю слуха был показан в Китае ( $n = 2063$ ) — 14,9% [16], Иране ( $n = 2322$ ) — 16,1% [11] и Индии ( $n = 530$ ) — 21,1% [33]. Таким образом, полученная нами оценка вклада мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха у населения Якутии (48,85%), является максимальной среди всех ранее изученных регионов Азии. Полученные результаты подтверждают экстремально высокой частотой гетерозиготного носительства мутации с.-23+1G>A (0,112) в популяции якутов, которая оказалась сопоставима по частоте гетерозиготного носительства данной мутации с ранее полученными результатами — 0,102 [10].

Анализ частот аллельных вариантов гена *GJB2* в исследованной выборке пациентов показал, что доля рецессивных мутаций этого гена составляет 51,10% среди всех исследованных хромосом неродственных пациентов, среди которых наиболее частыми (>1%) оказались: с.-23+1G>A (42,28%), с.35delG (5,92%) и с.109G>A (1,92%). Таким образом, детекция только этих трёх мутаций гена *GJB2* позволяет обнаружить до 99% мутантных *GJB2*-аллелей, встречающихся в Якутии, что может являться основой для разработки эффективных регионально-адаптированных методов рутинной ДНК-диагностики врождённых нарушений слуха.

В случае обнаружения у пациента двух рецессивных *GJB2*-мутаций (в гомозиготном или компаунд-гетерози-

готном состоянии) может быть подтвержден диагноз *аутосомно-рецессивная глухота типа 1А*. В выборке пациентов из Якутии у 192 из 393 обследованных (48,85%) было выявлено 10 генотипов с двумя мутациями гена *GJB2*. При выявлении у пациента только одной рецессивной *GJB2*-мутации (в нашем исследовании было выявлено 38 таких пациентов (9,66%) из 393 обследованных), ДНК-диагностика остаётся неинформативной. Данные пациенты могут быть как гетерозиготными носителями мутаций гена *GJB2*, так и иметь в транс-положении вторую мутацию, находящуюся за пределами анализируемой области гена *GJB2*. Таким пациентам можно рекомендовать проведение дальнейшего поиска мутаций, локализованных в регуляторных областях гена *GJB2*, или в других генах, ответственных за потерю слуха. В тех случаях, когда у пациента не найдено мутаций в гене *GJB2* (в нашем исследовании это 125 пациентов (31,80%) из 393 исследованных) можно заключить, что потеря слуха у данного пациента не связана с мутациями в гене *GJB2*, с вероятностью >99%.

Результаты молекулярно-генетического анализа гена *GJB2* и информация о месте рождения обследованных больных позволили оценить территориальную распространённость потери слуха, обусловленной двумя *GJB2*-мутациями в Республике Саха (Якутия) ( $2,00 \pm 0,14$  на 10 000 населения) с максимальным накоплением в Нюрбинском ( $9,50 \pm 1,94$  на 10 000) и Чурапчинском ( $7,84 \pm 1,96$  на 10 000) районах (улусах) Республики. Выраженная вариабельность территориальной распространённости АРГ 1А, вероятно, может быть связана с различным этническим составом населения районов (улусов). На рис. 4 А показано, что наибольшая распространённость АРГ 1А, обусловленной гомозиготной мутацией с.-23+1G>A, регистрируется в центральных и западных районах Якутии с локальными «очагами накопления» в Чурапчинском (центральная группа улусов) и Нюрбинском улусах (вилуйская группа улусов), в которых проживает, в основном, якутское население. Интересным представляется то, что эти результаты оказались сопоставимы с результатами реконструкции предкового гаплотипа с мутацией с.-23+1G>A, где наиболее рекомбинированные гаплотипы были обнаружены именно в центральной и вилуйской группах улусов [9]. Наибольшая распространённость АРГ 1А, обусловленной мутацией с.35delG в гомозиготном состоянии, была зарегистрирована в четырёх районах (улусах) — Оймяконском, Нерюнгринском, Ленском и Вилуйском с максимумом накопления в городском округе «г.Якутск». Данные муниципальные образования являются промышленными районами, с многонациональным составом. Данные территориальной распространённости и выявление локальных «очагов накопления» АРГ 1А, актуальны для проведения медико-профилактических мероприятий по предупреждению и снижению частоты врождённых нарушений слуха в Республике Саха (Якутия).

## Список литературы

1. Бады-Хоо М.С., Бондарь А.А., Морозов И.В. и др. Изучение наследственных форм тугоухости/глухоты в Республике Тыва. Сообщение II. Оценка спектра мутаций в гене GJB2 (Cx26) и их вклада в этиологию потери слуха // *Мед. генетика*. — 2014. — №11. — С. 23–33.
2. Барашков Н.А., Джемилева Л.У., Федорова С.А. и др. Мутации гена коннексина 26 (GJB2) у больных наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухостью в Республике Саха (Якутия) // *Вестник оториноларингологии*. — 2008. — №5. — С. 23–28.
3. Близнац Е.А., Галкина А.В., Матюшенко Г.Н. и др. Изменения в гене коннексина 26 — GJB2 — при нарушениях слуха у Российских пациентов: Результаты многолетней молекулярной диагностики наследственной несиндромальной тугоухости // *Генетика*. — 2012. — Т. 48, №1. — С. 112–124.
4. Близнац Е.А., Саркисян Т.Ф., Манукян Т.А. и др. Тугоухость у армян, обусловленная мутациями в гене коннексина 26 — GJB2. // *Мед. генетика*. — 2012. — №5. — С. 23–28.
5. Лалаянц М.Р., Близнац Е.А., Маркова Т.Г. и др. Результаты аудиологического обследования детей первого года жизни с сенсоневральной тугоухостью, обусловленной мутациями в гене GJB2. // *Вестник оториноларингологии*. — 2011. — №3. — С. 31–35.
6. Осетрова А.А., Шаронова Е.И., Россинская Т.Г. и др. Изучение генетических причин врожденной и ранней тугоухости в специализированных школах детей с нарушением слуха в Кировской области. // *Медицинская генетика*. — 2010. — Т. 9. — С. 30–40.
7. Abe S., Usami S., Shinkawa H. et al. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese // *J. Med. Genet.* — 2000. — Vol. 37(1). — P. 41–43.
8. Al-Qahtani M.H., Baghlab I., Chaudhary A.G. et al. Spectrum of GJB2 mutations in a cohort of nonsyndromic hearing loss cases from the Kingdom of Saudi Arabia // *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. — 2010. — Vol. 14(1). — P. 79–83.
9. Barashkov N.A., Dzhemileva L.U., Fedorova S.A. et al. Autosomal recessive deafness IA (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. — Vol. 56(8). — P. 631–639.
10. Barashkov N. A., Solovyev A. V., Teryutin F. M. et al. Extremely High Carrier Frequency of the GJB2 Splice Site IVS1+1G>A Mutation in Eastern Siberia is Comparable to the Carrier Frequency of the Sick Cell Anemia in Africa // *J. Genet. Genome Res.* — 2014. — Vol. 1:1.
11. Bazazzadegan N., Nikzat N., Fattahi Z. et al. The spectrum of GJB2 mutations in the Iranian population with non-syndromic hearing loss-A twelve year study // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngology*. — 2012. — Vol. 76(8). — P. 1164–1174.
12. Bonyadi M.J., Fotouhi N., Esmaeili M. Spectrum and frequency of GJB2 mutations causing deafness in the northwest of Iran // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngology*. — 2014. — Vol. 78(4). — P. 637–640.
13. Chan D.K., Chang K.W. GJB2-associated hearing loss: systematic review of worldwide prevalence, genotype, and auditory phenotype // *Laryngoscope*. — 2014. — Vol. 124(2). — P. 34–53.
14. Cordeiro-Silva Mde F., Barbosa A., Santiago M. et al. Mutation analysis of GJB2 and GJB6 genes in Southeastern Brazilians with hereditary nonsyndromic deafness // *Mol. Biol. Rep.* — 2011. — Vol. 38(2). — P. 1309–1313.
15. Dahl H.H., Ching T.Y., Hutchison W. et al. Etiology and audiological outcomes at 3 years for 364 children in Australia // *PLoS One*. — 2013. — Vol. 8(3). — e59624.
16. Dai P., Yu F., Han B. et al. GJB2 mutation spectrum in 2063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment // *J. Transl. Med.* — 2009. — Vol. 14(7). — P. 26–38.
17. Danilenko N., Merkulava E., Siniuskaya M. et al. Spectrum of genetic changes in patients with non-syndromic hearing impairment and extremely high carrier frequency of 35delG GJB2 mutation in Belarus // *PLoS One*. — 2012. — Vol. 7(5). — e36354, 7 pages.
18. Davarnia B., Babanejad M., Fattahi Z. et al. Spectrum of GJB2 (Cx26) gene mutations in Iranian Azeri patients with nonsyndromic autosomal recessive hearing loss // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* — 2012. — Vol. 76(2). — P. 268–271.
19. Estivill X., Fortina P., Surrey S. et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness // *Lancet*. — 1998. — Vol. 351(9100). — P. 394–398.
20. Frei K., Szuhai K., Lucas T. et al. Connexin 26 mutations in cases of sensorineural deafness in eastern Austria // *E. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 10(7). — P. 427–432.
21. Gasparini P., Rabionet R., Barbujani G. et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG // *Eur. J. Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 8(1). — P. 19–23.
22. Gravina L.P., Foncuberta M.E., Prieto M.E. et al. Prevalence of DFNB1 mutations in Argentinean children with non-syndromic deafness. Report of a novel mutation in GJB2 // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* — 2010. — Vol. 74(3). — P. 250–254.
23. Green G.E., Scott D.A., McDonald J.M. et al. Performance of cochlear implant recipients with GJB2-related deafness // *Am. J. Med. Genet.* — 2002. — Vol. 109(3). — P. 167–170.
24. Hamelmann C., Amedofu G., Albrecht K. et al. Pattern of Connexin 26 (GJB2) Mutations Causing Sensorineural Hearing Impairment in Ghana // *Hum. Mutations*. — 2001. — Vol. 18(1). — P. 84–85.
25. Janecke A.R., Hirst-Stadlmann A., Gunther B. et al. Progressive hearing loss, and recurrent sudden sensorineural hearing loss associated with GJB2 mutations-phenotypic spectrum and frequencies of GJB2 mutations in Austria // *Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 111(2). — P. 145–153.
26. Kelley P., Harris D., Comer B. et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 62(4). — P. 792–799.
27. Kelsell D.P., Dunlop J., Stevens H.P. et al. Connexin 26 mutations in hereditary nonsyndromic sensorineural deafness // *Nature*. — 1997. — Vol. 387(6628). — P. 80–83.
28. Kudo T., Ikeda K., Kure S. et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population // *Am. J. Med. Genet.* — 2000. — Vol. 90(2). — P. 141–145.
29. Kupka S., Braun S., Aberle S. et al. Frequencies of GJB2-mutations in German control individuals and patients showing sporadic non-syndromic hearing impairment // *Hum. Mutat.* — 2002. — Vol. 20(1). — P. 77–78.
30. Lazar C., Popp R., Trifa A. et al. Prevalence of the c.35delG and p.W24X mutations in the GJB2 gene in patients with nonsyndromic hearing loss from North-West Romania // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* — 2010. — Vol. 74(4). — P. 351–355.
31. Liu X.L., Xia J.X., Ke X.M. et al. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population // *Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 111(4–5). — P. 394–397.
32. Lopponen T., Vaisanen M.L., Luotonen M. et al. Connexin 26 mutations and nonsyndromic hearing impairment in northern Finland // *Laryngoscope*. — 2003. — Vol. 113(10). — P. 1758–1763.



33. Mani R.S., Ganapathy A., Jalvi R. et al. Functional consequences of novel connexin 26 mutations associated with hereditary hearing loss // *Eur. J. Hum. Genet.* — 2009. — Vol. 17(4). — P. 502–509.
34. Matos T.D., Simoes-Teixeira H., Caria H. et al. Spectrum and frequency of GJB2 mutations in a cohort of 264 Portuguese nonsyndromic sensorineural hearing loss patients // *Int. J. Audiol.* — 2013. — Vol. 52(7). — P. 466–471.
35. Minarik G., Ferak V., Ferakova E. et al. High Frequency of GJB2 Mutation W24X among Slovak Romany (Gypsy) Patients with Non-Syndromic Hearing Loss (NCHL) // *Gen. Physiol. Biophys.* — 2003. — Vol. 22(4). — P. 549–556.
36. Morton C.C., Nance W.E. Newborn hearing screening — a silent revolution // *N. Engl. J. Med.* — 2006. — Vol. 354(20). — P. 2151–2164.
37. Najmabadi H., Cucci R.A., Sahebjam S. et al. GJB2 mutations in Iranians with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss // *Hum. Mut.* — 2002. — Vol. 19(5). — P. 572–578.
38. Ohtsuka A., Yuge I., Kimura S. et al. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation // *Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 112(4). — P. 329–333.
39. Oliveira C.A., Maciel-Guerra A.T., Sartorato E.L. et al. Deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene in Brazilian patients // *Clin. Genet.* — 2002. — Vol. 61. — P. 354–358.
40. Park H.J., Hahn S.H., Chun Y.M. et al. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss // *Laryngoscope.* — 2000. — Vol. 110(9). — P. 1535–1538.
41. Pollak A., Skorka A., Mueller-Malesinska M. et al. M34T and V37I mutations in GJB2 associated hearing impairment: evidence for pathogenicity and reduced penetrance // *Am. J. Med. Genet. A.* — 2007. — Vol. 143A(21). — P. 2534–2543.
42. Popova D.P., Kaneva R., Varbanova S., Popov T.M. Prevalence of GJB2 mutations in patients with severe to profound congenital nonsyndromic sensorineural hearing loss in Bulgarian population // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* — 2012. — Vol. 269(6). — P. 1589–1592.
43. Posukh O., Pallares-Ruiz N., Tadinova V. et al. First molecular screening of deafness in the Altai Republic population // *BMC Medical Genet.* — 2005. — Vol. 6(12). — P. 1–7.
44. Rabionet R., Zelante L., Lopez-Bigas N. et al. Molecular bases of childhood deafness resulting from mutations in the GJB2 (connexin 26) gene // *Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 106(1). — P. 40–44.
45. RamShankar M., Girirajan S., Dagan O. et al. Contribution of connexin 26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India // *J. Med. Genet.* — 2003. — Vol. 40(5). — P. e68.
46. Roux A.F., Pallares-Ruize N., Vielle A. et al. Molecular epidemiology of DFNB1 deafness in France // *BMC Med. Genet.* — 2004. — Vol. 5(5). — P. 1–10.
47. Sansovic I., Knezevic J., Musani V. et al. GJB2 mutations in patients with nonsyndromic hearing loss from Croatia // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* — 2009. — Vol. 13(5). — P. 693–699.
48. Seeman P., Maliková M., Rasková D. et al. Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness // *Clin. Genet.* — 2004. — Vol. 66(2). — P. 152–157.
49. Sirmaci A., Akcayoz-Duman D., Tekin M. The c.IVS1+1G>A mutation in the GJB2 gene is prevalent and large deletions involving the GJB6 gene are not present in the Turkish population // *J. Genet.* — 2006. — Vol. 85(3). — P. 213–216.
50. Shan J., Chobot-Rodd J., Castellanos R. et al. GJB2 mutation spectrum in 209 hearing impaired individuals of predominantly Caribbean Hispanic and African descent // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* — 2010. — Vol. 74(6). — P. 611–618.
51. Snoeckx R.L., Huygen P.L., Feldmann D. et al. GJB2 Mutations and Degree of Hearing Loss: A Multicenter Study // *Am. J. Hum. Genet.* — 2005. — Vol. 77(6). — P. 945–957.
52. Shahin H., Walsh T., Sobe T. et al. Genetics of congenital deafness in the Palestinian population: multiple connexin 26 alleles with shared origins in the Middle East // *Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 110(3). — P. 284–289.
53. Sterna O., Pronina N., Grinfelde I. et al. Spectrum and Frequency of the GJB2 Gene Mutations Among Latvian Patients with Prelingual Nonsyndromic Hearing Loss // *Proceed. Latv. Acad. Scienc. Section B.* — 2009. — Vol. 63(4/5 (663/664)). — P. 198–203.
54. Tang H.Y., Fang P., Ward P.A. et al. DNA sequence analysis of GJB2, encoding connexin 26: observations from a population of hearing impaired cases and variable carrier rates, complex genotypes, and ethnic stratification of alleles among controls. // *Am. J. Med. Genet. A.* — 2006. — Vol. 140(22). — P. 2401–2415.
55. Teek R., Kruustuk K., Zordania R. et al. Hearing impairment in Estonia: an algorithm to investigate genetic causes in pediatric patients // *Adv. Med. Sci.* — 2013. — Vol. 58(2). — P. 419–428.
56. Tekin M., Arnos K.S., Pandya A. Advances in hereditary deafness // *Lancet.* — 2001. — Vol. 358(9287). — P. 1082–1090.
57. Tekin M., Xia X.J., Erdenetungalag R. et al. GJB2 mutations in Mongolia: complex alleles, low frequency, and reduced fitness of the deaf // *Ann. Hum. Genet.* — 2010. — Vol. 74(2). — P. 155–164.
58. Toth T., Kupka S., Haack B. et al. Coincidence of mutations in different connexin genes in Hungarian patients // *Int. J. Mol. Med.* — 2007. — Vol. 20(3). — P. 315–321.
59. Trotta L., Iacona E., Primignani P. et al. GJB2 and MTRNR1 contributions in children with hearing impairment from Northern Cameroon // *Int. J. Audiol.* — 2011. — Vol. 50(2). — P. 133–138.
60. Tsukada K., Nishio S., Usami S. Deafness Gene Study Consortium. A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients // *Clin. Genet.* — 2010. — Vol. 78(5). — P. 464–470.
61. Wattanasirichaigoon D., Limwongse C., Jariengprasert C. et al. High prevalence of V37I genetic variant in the connexin-26 (GJB2) gene among non-syndromic hearing-impaired and control Thai individuals // *Clin. Genet.* — 2004. — Vol. 66. — P. 452–460.
62. Zainal S.A., Md Daud M.K., Abd Rahman N. et al. Mutation detection in GJB2 gene among Malays with non-syndromic hearing loss // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* — 2012. — Vol. 76(8). — P. 1175–1179.
63. Zelante L., Gasparini P., Estivill X. et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterranean // *Hum. Mol. Genet.* — 1997. — Vol. 6(9). — P. 1605–1609.