

Частота мутаций гена *GJB2* у больных наследственной несиндромальной нейросенсорной тугоухостью в девяти популяциях Карачаево-Черкесской Республики

Петрина Н.Е.¹, Блинец Е.А.¹, Зинченко Р.А.^{1,2}, Макаов А.Х.-М.³, Петрова Н.В.¹, Васильева Т.А.¹, Чудакова Л.В.¹, Петрин А.Н.^{1,4}, Поляков А.В.¹, Гинтер Е.К.^{1,5}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, e-mail: renazinchenko@mail.ru

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: renazinchenko@mail.ru

³ Муниципальное бюджетное лечебно-профилактическое учреждение «Хабезская центральная районная больница», Хабез Карачаево-Черкесской Республики, e-mail: makaov@yandex.ru

⁴ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: a.petrin@mail.ru

⁵ Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: ekginter@mail.ru

Проведено обследование населения и медико-генетическое консультирование пациентов с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью (ННТ) в г.Черкесске и восьми районах (Усть-Джегутинском, Карачаевском, Малокарачаевском, Абазинском, Прикубанском, Хабезском и Ногайском, Адыге-Хабельском) Карачаево-Черкесской Республики (КЧР). Всего выявлено 197 пациентов с ННТ. 127 пациентам с ННТ проведена ДНК-диагностика кодирующего экзона гена *GJB2*. Частота всех патологических изменений в гене *GJB2* у больных ННТ составила 35,04% (у русских пациентов 53%, у карачаевцев 8,11%, у черкесов 50%, у абазин 25%). Определена популяционная частота мутации с.35delG в гене *GJB2* среди 507 здоровых индивидов трех этнических групп (русские, карачаевцы, черкесы). Популяционная частота мутации с.35delG в гене *GJB2* у русского населения КЧР составила 0,0143 (гетерозиготное носительство 1:35), у карачаевцев 0,00135 (1:370), у черкесов — 0,0098 (1:51).

Ключевые слова: наследственная несиндромальная нейросенсорная тугоухость, мутация с.35delG, секвенирование гена *GJB2*, этнические группы, Республика Карачаево-Черкессия.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов №15-04-01859, 17-04-00288, РНФ 17-15-01051.

The frequency of *GJB2* gene mutations in patients with hereditary non-syndromic sensorineural hearing loss in eight populations of Karachay-Cherkess Republic

Petrina N.E.¹, Bliznetz E.A.¹, Zinchenko R.A.^{1,2}, Makaov A.Kh.-M.³, Petrova N.A.¹, Vasilyeva T.A.¹, Chudakova L.V.¹, Petrin A.N.^{1,4}, Polyakov A.V.¹, Ginter E.K.^{1,5}

¹ Federal state scientific budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics» Moscow, 115478, e-mail: renazinchenko@mail.ru

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russia, e-mail: renazinchenko@mail.ru

³ Municipal Budgetary Health Care setting «Habezskaya central district hospital», Habez, 369400, Karachai-Cherkess Republic, e-mail: makaov@yandex.ru

⁴ Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20 bld. 1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russia, E-mail: a.petrin@mail.ru

⁵ Russian Medical Academy of Postgraduated Education, Moscow, 125993, Russia, E-mail: ekginter@mail.ru

The study of the population and the medical genetic counseling of patients with non-syndromic sensorineural hearing loss (NSHL) in Cherkessk city and eight districts (Ust-Dzhegutinskaya, Karachayevsky, Malokarachayevsky, Abazinsky, Prikubansky, Habezsky and Nogaisky) of Karachay-Cherkess Republic (KCHR) were performed. 197 patients with NSHL were identified. 127 patients with NSHL held DNA-diagnostics of coding exon *GJB2* gene. The frequency of all pathological mutations *GJB2* gene was 35.04% (in 53.00% of Russian patients, in 8.11% of Karachai, 50% of Circassians, in 25% of Abaza). Population frequencies c.35delG mutations in *GJB2* gene among 507 healthy individuals of the three ethnic groups (Russian, Karachay, Circassian) were determined.

Keywords: hereditary non-syndromic sensorineural hearing loss, 35delG mutation, *GJB2* gene sequencing, ethnic groups, the Republic of Karachay-Cherkessia.

Введение

Проблема глухоты и тугоухости имеет большое научное и практическое значение в связи с высокой частотой и широкой распространенностью данного заболевания в популяциях человека. По данным литературы, частота врожденных нарушений слуха составляет 1 на 1000 новорожденных [1]. Нарушение слуховой функции различной этиологии может происходить в течение всей жизни, что приводит к увеличению распространенности тугоухости с возрастом, которая составляет в среднем 1 на 25 человек после 45 лет [2–4]. Около 50–60% прелингвальной тугоухости обусловлено наследственными причинами (рис. 1) [2–4].

Генетически обусловленные формы снижения слуха чаще всего представлены вариантами несиндромальной тугоухости (в 70–80%). Среди них нейросенсорная несиндромальная тугоухость (ННТ) составляет около 92%. Аутосомно-рецессивные (АР) формы составляют примерно 70–80% всей ННТ. Наиболее частой причиной АР тугоухости в европейских популяциях и в нашей стране являются мутации гена коннексина 26 (*GJB2*), локализованного в длинном плече хромосомы 13 [4, 5].

В России самым частым патогенным вариантом гена *GJB2* для большинства популяций является мутация с.35delG [6–9]. Частота гетерозиготного носительства аллеля с.35delG в популяциях Европы 2–4% [10].

В России частота носителей мутации с.35delG составляет 4% в Северо-Западном регионе (Калининград, Санкт-Петербург, Архангельск), среди русского населения Башкирии, Чувашии — 3%, Татарстана 2,7%, в Якутии — 2,8%, в Алтайском крае — 2,2%, в Ростовской области — 2,1%, в Кировской области — 2,5%, в Псковской области — 1,2%, [3, 7, 8, 11–13]. В ряде работ показана этническая неоднородность спектра и частоты мутаций,

найденных в гене *GJB2*. Так, показано, что частота мутации с.35delG среди якутов составляет 0,2% [3].

Исследования лаборатории генетической эпидемиологии, проводимые с 2000 года, позволили оценить популяционную частоту мутации с.35delG у здорового населения ряда этносов РФ: татар Татарстана — 1,2% (N = 1420 обследованных хромосом), чувашей Чувашии — 0,78% (N = 768), марийцев Марий Эл — 1,1% (N = 804), удмуртов Удмуртии — 0,25% (N = 1184), башкир Башкирии — 0,25% (N = 792), бурят — 0 (N = 552).

Для целостного представления о распространенности различных генетических вариантов нарушения слуха в популяциях/этнотипах, проживающих на территории РФ необходимы дальнейшие эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования, которые послужат пониманию особенностей генетической гетерогенности и широты клинического полиморфизма данного вида патологии.

В настоящее время существует множество работ, посвященных изучению клинических проявлений сенсоневральной тугоухости, обусловленной мутациями в гене *GJB2*. Для нее характерны ранняя манифестация, симметричность поражения и стабильность порогов слышимости. Мутации, которые связаны с нарушением синтеза коннексина 26, чаще проявляются потерей слуха тяжелой степени, вплоть до глухоты. Мутации, которые не нарушают синтез белка, например, миссенс-мутации, чаще характеризуются меньшей степенью потери слуха [14].

Успех реабилитации зависит от своевременного выявления нарушения слуха. В связи с этим в России и некоторых зарубежных странах проводится аудиологический скрининг новорожденных. Для дифференциальной диагностики при подозрении на наследственный характер поражения наряду с другими исследованиями рекомендуется использовать метод ДНК-анализа. Выявление генетического дефекта не только дает возможность прогнозирования течения и риска повторения заболевания в семье, но и является показанием в случае тяжелого нарушения слуха для применения кохлеарной имплантации, дающей хорошие результаты в случаях, когда тугоухость обусловлена мутациями в гене *GJB2* [15–18].

Целью исследования явилось определение спектра мутаций в кодирующем экзоне гена *GJB2* у пациентов с прелингвальной ННТ, проживающих в г.Черкесске и восьми районах Карачаево-Черкесской Республики.

Материалы и методы исследования

Проведено обследование населения и медико-генетическое консультирование пациентов с ННТ в г.Черкесске, Усть-Джегутинском, Карачаевском, Малокарачаевском, Абазинском, Прикубанском, Хабезском, Ногайском и Адыге-Хабльском районах Карачаево-Черкесской Республики (КЧР). Численность обследованно-



Рис. 1. Структура врожденной тугоухости по R.Smith, [18].

го населения составила 307 756 чел. Обследовано все население обозначенных популяций независимо от национальности и возраста. Исследование выполнено в соответствии с протоколом генетико-эпидемиологических исследований, разработанным в лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». Протокол предусматривает комплексность и унифицированность исследований популяций, что позволяет проводить адекватное сравнение вновь изученных с ранее обследованными регионами РФ [19].

Всего выявлено 197 пациентов с ННТ. У 127 больных проведена подтверждающая ДНК-диагностика. Пациенты подписали письменное информированное согласие на добровольное проведение исследования и анализ ДНК. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ».

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови проводилось с использованием набора реактивов Wisard Genomic DNA Purification Kit «Promega» (США).

Исследование проведено в несколько этапов. На первом этапе осуществлен поиск частой мутации с.35delG гена *GJB2* методом ПЦР. Результаты амплификации оценивали путем вертикального электрофореза (20 x 20 см) в ПААГ(9%) с последующим окрашиванием геля раствором бромистого этидия и регистрацией с помощью документирующей системы Vilber Lourmat (Франция) в УФ-излучении (длина волны 312 нм).

Второй этап — поиск мутации с.-23+1G>A (IVS1+1G>A) методом ПДРФ-анализа по протоколу, описанному ранее [1].

После двух этапов поиска мутаций оставались 93 пациента без изменений в гене *GJB2* или с мутацией только в одном *GJB2*-аллеле. Этим больным было проведено секвенирование кодирующего экзона 2 гена *GJB2* (третий этап исследования). Для секвенирования использовали фрагменты ДНК, полученные в ходе ПЦР с применением набора реактивов Applied Biosystems BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing kit (США) с последующим анализом на приборах Applied Biosystems 3500 xL Genetic Analyzer (США) и Applied Biosystems 3130 xL Genetic Analyzer (Япония). Сек-

венирование проводили в лабораториях ДНК-диагностики и лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБНУ «МГНЦ». Полученные хроматограммы анализировали с помощью программы FinchTV 1.4.0. Для нумерации нуклеотидов в названии обнаруженных изменений в гене *GJB2* использовали референсную последовательность кДНК из NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_004004.5). Нумерация нуклеотидов произведена с нуклеотида А иницирующего кодона ATG в экзоне 2 в соответствии с международной номенклатурой HGVS (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>).

Четвертый этап — поиск протяженной делеции 309 kb del (delGJB6-D13S1830) у пациентов с одной патогенной рецессивной мутацией в одном *GJB2*-аллеле, проводился методом анализа дуплексной ПЦР-ПДАФ согласно протоколу, описанному ранее [1].

5'-3'-последовательность праймеров для всех реакций представлена в табл. 1.

Сравнение популяционных частот мутации с.35delG проводили, используя точный критерий Фишера.

Результаты и обсуждение

В результате медико-генетического обследования 9 популяций (в г.Черкесске, Усть-Джегутинском, Карачаевском, Малокарачаевском, Абазинском, Прикубанском, Хабезском, Ногайском, Адыге-Хабльском районах) КЧР выявлено 197 пациентов из 152 семей с ННТ.

Все пациенты обследованы сурдологом, большинство имели прелингвальную нейросенсорную тугоухость 3—4 степени, либо полную глухоту. У двух пациентов со слов родителей дебют заболевания наблюдался в 1—2 года, в двух семьях у трех больных отмечена постлингвальная (с дебютом в начальных классах школы) прогрессирующая тугоухость, остальные — тугоухие/глухие с рождения. Кохлеарная имплантация проведена двум пациентам. В анамнезе пациентов отсутствовали возможные внешнесредовые факторы риска развития тугоухости. Пациенты также осмотрены врачом-генетиком с целью исключения синдромальных форм нейросенсорной тугоухости.

Таблица 1

Последовательности праймеров для ПЦР

Изменение в гене <i>GJB2</i>	5'-3'-последовательность олигонуклеотидов
с.35delG	F-CTTTTCAGAGCAAACCGCCC R-TGCTGTGAGTGTGTTGTTTAC
с.-23+1G>A (IVS1+1G>A)	F-GCGCTTCCTCCCGACGCAG R-CCAGGTTCTGCGCGGGCATC
Секвенирование гена <i>GJB2</i>	F-GGTTGCCTCATCCCTCTCAT R-GTTCTGTCCTAGCTAGTGATT
309 kb del (delGJB6-D13S1830) + фрагмент-контроль ПЦР	F-CACCATGCGTAGCCTTAACCATTTT R-TTTAGGGCATGATTGGGGTGATT F-CGTCTTTGGGGGTGTTGCTT R-CATGAAGAGGGCGTACAAGTTAGAA

ДНК-диагностика проведена 127 пациентам из 91 неродственной семьи. Процентное соотношение единичных и семейных случаев в разных этнических группах статистически достоверно не различалось (у абазин семейных случаев 12,5%, у карачаевцев 20%, у черкесов 20% у русских 16%). В результате первого этапа молекулярно-генетического исследования определено, что мутация с.35delG гена *GJB2* у 34 чел. находится в гомозиготном состоянии, а у 7 пациентов — в гетерозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии. Таким образом, установлена средняя частота мутации с.35delG среди больных, проживающих в Карачаево-Черкесии, составившая 29,53% (75/254 хромосом). Анализ частоты встречаемости мутации с.35delG в гене *GJB2* в разных этнических группах КЧР приведен в табл. 2. Различия выявлены только между карачаевцами и другими этническими группами ($p < 0,05$; $P = 99,10$; $P = 99,61$; $P = 99,87$ соответственно).

В результате выполнения всех этапов молекулярного исследования патогенные варианты гена *GJB2* выявлены у 46 пациентов: у 43 пациентов выявлены 2 рецессивных патогенных варианта в генотипе, у одного — 1 патогенный вариант с доминантно-негативным эффектом, двое оказались гетерозиготными носителями рецессивного патогенного варианта. Дополнительно у четверых пациентов обнаружены непатогенные варианты и у одного — вариант с неустановленным клиническим значением в гетерозиготном состоянии. Все выявленные генотипы у пациентов основных этнических групп КЧР представлены в табл. 3.

Таким образом, аллельная частота выявленных патогенных вариантов гена у пациентов с НСТ исследованной выборки составляет: у карачаевцев — 8,11% (6/74), у русских — 53% (53/100), у абазин — 25% (4/16), у черкесов — 50% (9/18), у представителей других национальностей, метисов в том числе — 36,96% (17/46). В группу пациентов других национальностей вошли: абазин-черкес, туркмен-абазин, кабардинец-черкес, русский-ногаец, русский-абазин, ногайцы, чеченцы, башкиры, татары, азербайджанцы, кабардинцы, балкарцы, армяне, турки. Пять пациентов данной группы (метис от брака

«туркмен-абазинка», 2 балкарца, армянин) были с гомозиготным генотипом по с.35delG, двое (кабардинец и метис от брака «кабардинец-черкеска») имеют генотип с.[358_360delGAG];[35delG], один (метис от брака «кабардинец-черкеска») — генотип с.[358_360delGAG];[-23+1G>A].

В табл. 4 приведены спектр и аллельная частота выявленных патогенных вариантов гена *GJB2* среди неродственных пациентов с НСТ в четырех основных этнических группах КЧР. Доля пациентов, несущих патогенные варианты гена *GJB2* в группе неродственных больных из КЧР составляет 36% (67/186). Среди мутаций превалирует с.35delG с частотой 81% (54/67) среди всех патогенных аллелей выборки, мутация с.-23+1G>A наблюдается с частотой 6% (4/67), мутации с.358_360delGAG и с.313_326del14 — с частотой 5% (3/67) и 3% (2/67) соответственно, другие патогенные варианты встретились единожды (табл. 4).

Наибольшая доля пациентов (более 40%) с патогенным генотипом выявлена в группах русских и черкесов. Среди абазин и карачаевцев тугоухость, обусловленная мутациями в гене *GJB2*, наблюдается заметно реже, в 25% и 17% случаев НСТ соответственно. Схожий показатель зафиксирован во многих выборках пациентов из Азии или с Кавказа, в которых также регистрируется сравнительно низкая частота тугоухости исследуемого генетического типа [4, 5, 7–13].

Превалирующая по частоте в большинстве европейских, американских и российских популяциях мутация с.35delG также значительно преобладает во всех основных этнических группах КЧР: 86% (32/37) у русских, 83% (5/6) — карачаевцев, 75% (3/4) — абазин, 71% (5/7) — черкесов и 69% (9/13) в смешанной этнической группе. Мутация с.313_326del14 встретила только среди русских пациентов КЧР с довольно высокой частотой 5% (2/37) от всех патогенных аллелей, такая же частота данной мутации зафиксирована в среднем по России, а наибольшая — от 7% до 28% — только в странах Восточной Европы. Мутация с.-23+1G>A наблюдается у русских, черкесов и в этнически смешанной группе КЧР с частотой 5% (2/37), 14% (1/7) и 8% (1/13) соответственно, ха-

Таблица 2

Частота мутации с.35delG в гене *GJB2* у пациентов с ННТ из КЧР

Национальность	Всего человек (хромосом)	Кол-во человек с гетерозиготным или компаунд-гетерозиготным генотипом (хромосом)	Кол-во человек с генотипом с.[35delG];[35delG] (хромосом)	Частота с.35delG
Карачаевцы	37 (74)	1 (1)	2 (4)	6,76%
Русские	50 (100)	2 (2)	23 (46)	48%
Черкесы	9 (18)	1 (1)	3 (6)	38,89%
Абазины	8 (16)	1 (1)	1 (2)	18,75%
Другие	23 (46)	2 (2)	5 (10)	27,91%
Итого	127 (254)	7 (7)	34 (68)	29,53%

рактерной для стран Восточной Европы и в среднем для российских пациентов. Вполне вероятно, неслучайно выявлена относительно высокая частота мутации с.358_360delGAG у карачаевцев и в этнически смешанной группе — 17% (1/6) и 15% (2/13) соответственно — по сравнению со средним показателем в 1% у российских пациентов и в большинстве европейских выборок, поскольку данная мутация наиболее часто встречается у турецких и иранских пациентов. Остальные мутации, представленные в табл. 4, встретились единожды в отдельной этнической группе КЧР: характерные для европейцев — с.269T>C и с.101T>C — среди русских и черкесов, частая

на Алтае и в Средней Азии мутация с.235delC — у абазин [1, 4, 5, 21—24].

У одного русского пациента с ННТ выявлен вариант с.196G>A (p.Asp66Asn) в одном аллеле в гетерозиготном состоянии. Данная мутация описана в базе данных HGMD Professional как замена с неопределенным клиническим значением. Анализ *in silico*, исходя из физико-химических свойств и эволюционной консервативности (PolyPhen-2: prediction of functional effects of human nsSNPs: <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) и того факта, что в том же аминокислотном положении описан патогенный вариант с.196G>C (p.Asp66His), показал, что

Таблица 3

Выявленные генотипы пациентов с НСТ в основных этнических группах КЧР

Генотип <i>GJB2</i>	Патогенность, тип наследования	Русские	Абазины	Черкесы	Карачаевцы	Прочие
с.[35delG];[35delG]	Патогенный, АР	23	1	3	2	5
с.[35delG];[235delC]			1			
с.[35delG];[-23+1G>A]				1		
с.[35delG];[358_360delGAG]					1	2
с.[35delG];[313_326del14]		1				
с.[35delG];[269T>C]		1				
с.[313_326 del14];[-23+1G>A]		1				
с.[358_360delGAG];[-23+1G>A]						1
с.[-23+1G>A];[=]	Носительство АР НСТ	1				
с.[101T>C];[=]				1		
с.[224G>A];[=]	Патогенный, АД					1
с.[196G>A];[=]	Неизвестная	1				
с.[79G>A(];341A>G]	Непатогенный		1			
с.[79G>A];[=]					2	
с.[457G>A];[=]				1		
с.[=];[=]		22	5	3	32	14
Всего		50	8	9	37	23

Таблица 4

Аллельная частота в процентах (количество хромосом) патогенных мутаций в гене *GJB2*, выявленных у неродственных пациентов с НСТ — представителей разных этнических групп КЧР

Мутация	Русские, N = 39 (78)	Абазины, N = 8 (16)	Черкесы, N = 8 (16)	Карачаевцы, N = 18 (36)	Другие, N = 20 (40)	Итого, N = 93 (186)
с.35delG	41,03 (32)	18,75 (3)	31,25 (5)	13,89 (5)	22,5 (9)	29,03 (54)
с.313_326del14	2,56 (2)					1,08 (2)
с.235delC		6,25 (1)				0,54 (1)
с.358_360delGAG (p.Glu120del)				2,78 (1)	5 (2)	1,61 (3)
с.269T>C (p.Leu90Pro)	1,28 (1)					0,54 (1)
с.-23+1G>A (IVS1+1G>A)	2,56 (2)		6,25 (1)		2,50 (1)	2,15 (4)
с.101T>C (p.Met34Thr)			6,25 (1)			0,54 (1)
с.224G>A (p.Arg75Gln)					2,50 (1)	0,54 (1)
Итого	47,44 (37)	25 (4)	43,75 (7)	16,67 (6)	32,5 (13)	36,02 (67)

выявленный вариант — патогенный с высокой вероятностью. Однако в соответствии с международными рекомендациями ACMG (American College of Medical Genetics) по классификации патогенности вариантов совокупность всех имеющихся данных не позволяет достаточно точно оценить патогенность варианта с.196G>A (p.Asp66Asn), можно только классифицировать как вариант с неустановленным клиническим значением.

У обследованных пациентов выявлены также однонуклеотидные непатогенные замены. У двух карачаевцев выявлено носительство непатогенного полиморфного варианта с.79G>A (p.Val27Ile) гена *GJB2* [21, 22]. У одного абазина обнаружен вариант с.79G>A в сочетании с непатогенным вариантом с.341A>G (p.Glu114Gly). Данные большинства исследований свидетельствуют об отсутствии связи тугоухости с данными вариантами [25]. Однонуклеотидная непатогенная замена с.457G>A (p.Val153Ile) найдена у одного черкеса [21, 22]. У 81 пациента патологические изменения в гене *GJB2* не были выявлены. Двое больных имеют патогенные изменения только в одном аллеле. Протяженная делеция delGJB6-D13S1830 у пациентов с одной патогенной рецессивной мутацией в одном *GJB2*-аллеле не найдена.

Оценка частоты мутации с.35delG в гене *GJB2* у здоровых индивидов различных этнических групп в КЧР и в России

Оценены популяционные частоты мутации с.35delG в гене *GJB2* у 507 (1014 хромосом) здоровых индивидов у трех этнических групп КЧР: карачаевцы (N = 370 человек/740 хромосом), русские (N = 35/70), черкесы (N = 102/204).

В результате проведенного скрининга здоровых индивидов в выборке русских выявлен один носитель (1/70 хромосом) мутации с.35delG в гене *GJB2*. Частота мутации с.35delG у русского населения КЧР составила 1,43% (1:35), что соответствует данным литературы и результатам генетико-эпидемиологических исследований лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ» (рис. 2) [3, 7–9].

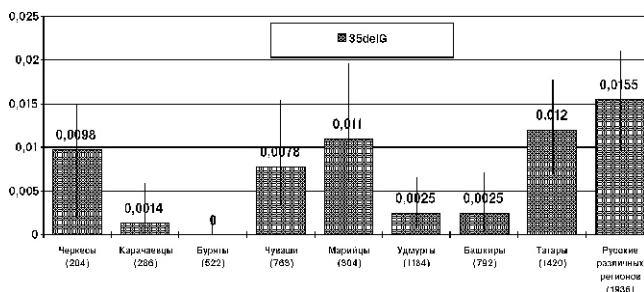


Рис. 2. Частота мутации с.35delG в гене *GJB2* в различных этнических группах России (по результатам генетико-эпидемиологических исследований ФГБНУ «МГНЦ»). В скобках показано число проанализированных хромосом.

В выборке карачаевцев выявлен один гетерозиготный носитель мутации с.35delG, популяционная частота мутации с.35delG среди карачаевцев оказалась низкой — 0,135% (1:370). Карачаевцы относятся к группе тюркоязычных народов. Основой наиболее многочисленной в КЧР карачаево-балкарской народности следует считать местные кавказские племена, носители кобанской археологической культуры, сложившейся в XIV—XIII вв. до н.э. в горах и ущельях Центрального Кавказа. В IV веке н.э. с потомками кобанцев слилось одно из племен алан, а в V—VI вв. в предгорных районах современной Карачаево-Черкесии расселяются группы болгаро-хазар. К сформировавшейся ранее алано-кобанской этнической группе присоединились тюркоязычные болгары, ставшие впоследствии основным этническим ядром карачаево-балкарской народности [26]. Популяционная частота мутации с.35delG у карачаевцев схожа по своим значениям с частотой у других тюркоязычных народов России: башкир, чувашей, якутов и т.д. [3, 7].

Частота мутации с.35delG у черкесов составила 0,98% — выявлено два носителя мутации (1:51). Черкесы принадлежат к группе абхазо-адыгских народов, являются одним из коренных народов КЧР. Предки черкесов (адыгов) упоминаются античными авторами с VI в. до н.э. под этнонимом керкеты, позднее видоизменившимся в «черкези». В XV—XVI вв. черкесы делятся на западных и восточных (Черкесия и Кабарда), называясь по-прежнему черкесами (адыгэ) с общим языком, имеющим ряд племенных диалектов. Несмотря на то, что у всех черкесских народов самоназвание адыгэ, восточные и западные адыги приобрели к настоящему времени названия: восточные — адыгэ (кабардинцы), черкесы-адыгэ (бесленевцы); западные — адыгэ (адыгейцы) [27]. Выявленные значения частоты (0,98%) мутации оказались по своим значениям схожи с таковыми у русского населения, что предполагает более тесное взаимодействие черкесов с русскими, и, в меньшей степени, с карачаевцами, в процессе этногенеза.

При сравнении частот мутации с.35delG между проанализированными популяционными выборками не выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$; $P = 88,46$; $P = 88,00$; $P = 16,25$), что обусловлено скорее всего малым абсолютным количеством выявленных носителей ($n = 1$) в каждой этнической группе.

Заключение

Оценена аллельная частота патогенных вариантов гена *GJB2* у неродственных индивидов пациентов с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью в КЧР, которая в среднем составила 35,04%: у русских пациентов 53%, у карачаевцев 8,11%, у черкесов 50%, у абазин 25%, у представителей других национальностей, в том числе метисов — 36,96%. Частота мутации с.35delG в гене *GJB2* различалась у больных ННТ разных этнических групп — у русских 48%, у карачаевцев 6,97%, у черкесов 38,89%, у абазин 18,75%, у больных ННТ других национальностей — 27,91%, состав-

вив в среднем по всей рассматриваемой выборке больных 29,53%. У карачаевцев частота мутации с.35delG в группе больных ННТ значительно ниже, чем у русских и черкесов КЧР ($p < 0,05$; $P = 99,10$; $P = 99,61$). Схожая картина наблюдалась при оценке популяционной частоты мутации с.35delG у 507 здоровых индивидов трех этнических групп (у русских частота 1,43%, у карачаевцев на порядок ниже — 0,135%, у черкесов 0,98%), хотя при данном анализе не выявлено статистически значимых различий ($p < 0,05$; $P = 88,46$; $P = 88,00$; $P = 16,25$).

В целом, спектр мутаций в гене *GJB2* в КЧР соответствует спектру мутаций в этом гене в большинстве европейских популяций. По указанному показателю черкесы наиболее схожи с русскими КЧР, спектр и частоты мутаций в данных этнических группах наиболее близки к показателям в выборках Восточной Европы и Центральной России. Не исключено, что особенностью спектра мутаций карачаевцев является большая схожесть с популяциями тюркского происхождения.

Несиндромальная аутосомно-рецессивная глухота — наиболее частая форма наследственной тугоухости и глухоты, характеризующаяся клиническим полиморфизмом и генетической гетерогенностью. В мире уже известно свыше 70 генных локусов, ассоциированных с несиндромальной тугоухостью, среди которых преобладают формы с аутосомно-рецессивным типом наследования. Для 44 пациентов (34,65%) удалось подтвердить диагноз наследственной несиндромальной нейросенсорной тугоухости. Учитывая, что в нашем исследовании у 83 пациентов с ННТ патогенные мутации в гене *GJB2* не были выявлены, либо было изменение только в одном аллеле, целесообразен расширенный поиск мутаций и в других генах, вызывающих ННТ.

Список литературы

1. Близнец ЕА, Галкина ВА, Матющенко ГН и др. Изменения в гене коннексина 26 — *GJB2* — при нарушениях слуха у российских пациентов: результаты многолетней молекулярной диагностики наследственной несиндромальной тугоухости. Генетика. 2012;48:110-121.
2. Smith RJH, Bale JF Jr, White KR. Sensorineural hearing loss in children. Lancet. 2005;365:79-890.
3. Барашков НА, Джемилева ЛУ, Федорова СА и др. Мутации гена коннексина 26 (*GJB2*) у больных наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухостью в Республике Саха (Якутия). Вестник оториноларингологии. 2008;5:9-14,23-28.
4. Gasparini P, Rabionet R, Barbuiani 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;8(1):19-23.
5. Online Mendelian Inheritance in Man. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM> (дата обращения 05.02.2016).
6. Зинченко РА, Ельчинова ГИ, Гинтер ЕК. Ассоциация между уровнем индекса эндогамии российских популяций, случайным инбридингом и отягощенностью наследственными болезнями. Медицинская генетика. 2003;2(9):432-436.
7. Зинченко СП, Кириллов АГ, Аbruкова АВ и др. Генетико-эпидемиологическое исследование наследственных (изолированных и синдромальных) нарушений слуха в Республике Чувашия. Медицинская генетика. 2007;6(5):18-28.
8. Шокарев РА, Амелина СС, Кривенцова НВ, Ельчинова ГИ, Хлебникова ОВ, Близнец ЕА, Тверская СМ, Поляков АВ, Зинченко РА. Генетико-эпидемиологическое и молекулярно-генетическое исследование наследственной тугоухости в Ростовской области. Медицинская генетика. 2005;4(12):556-567.
9. Шаронова ЕИ, Осетрова АА, Зинченко РА. Наследственные нарушения слуха в Кировской области. Якутский медицинский журнал. 2009;2(29):28-31.
10. Anichkina A, Kulenich T, Zinchenko S et al. On the origin and frequency of the 35delG allele in *GJB2*-linked deafness in Europe. Eur J Hum Genet 2001; 9: 2: 151.
11. Журавский СГ, Тараскина АЕ, Сетхиясилиани ТК и др. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости. Российская оториноларингология. 2004; 4: 11: 42-44.
12. Posukh O, Pallares-Ruiz N, Tadinova V, et al. First molecular screening of deafness in the Altai Republic population. BMC Med Genet 2005; 6: 12:1-7.
13. Хидиятова ИМ, Джемилева ЛУ, Хуснутдинова ЭК. Наследственная нейросенсорная тугоухость/глухота. В кн.: ДНК-диагностика и профилактика наследственной патологии в Республике Башкортостан. Под ред. проф. Э.К. Хуснутдиновой. Уфа: Китап 2005; 204.
14. Маркова ТГ, Мегрелишвили СМ, Зайцева НГ и др. ДНК-диагностика при врожденной и ранней детской тугоухости/глухоте. Вестн оторинолар 2002; 6: 12-15.
15. Лалаянц МР, Близнец ЕА, Маркова ТГ и др. Результаты аудиологического обследования детей первого года жизни с сенсоневральной тугоухостью, обусловленной мутациями в гене *GJB2*. Вестник оториноларингологии: Медицинский научно-практический журнал. 2011; 3: 31-35.
16. Таваркиладзе ГА, Поляков АВ, Маркова ТГ и др. Генетический скрининг нарушений слуха у новорожденных, сочетанный с аудиологическим скринингом. Вестник оториноларингологии 2010; 3: 15-18.
17. Wang QJ, Zhao YL, Rao SQ et al. Newborn hearing concurrent gene screening can improve care for hearing loss: A study on 14913 Chinese newborns. Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 2011; 75: 535-542.
18. Smith RJ, Bale JF, jr, White KR Sensorineural hearing loss in children. Lancet. 2005; 365: 879-890.
19. Зинченко РА, Ельчинова ГИ, Галкина ВА и др. Дифференциация этнических групп России по генам наследственных болезней. Медицинская генетика. 2007;6(2):29-37.
20. Medica I, Gorazd R, Balaban M, et al. 35delG/ *GJB2* and del(*GJB6*-D13S1830) mutations in Croats with prelingual non-syndromic hearing impairment. BMC Ear, Nose and Throat Disorders 2005, 5:11 doi:10.1186/1472-6815-5-11.
21. The Human Gene Mutation Database URL:<http://www.hgmd.org/> (дата обращения 10.03.2016).
22. ClinVar National Center for Biotechnology Information URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/> (дата обращения 15.03.2016).
23. Homozygous M34T mutation of the *GJB2* gene associates with an autosomal recessive nonsyndromic sensorineural hearing impairment in Finnish families. Lopponen T, Dietz A, Vaisanen ML and andere. Acta Otolaryngol. 2012 Aug;132(8):862-73. doi: 10.3109/00016489.2012.669498.
24. Significance of heterozygosis M34T mutation of *GJB2* gene in non-syndromic congenital deafness. Retrospective analysis of 12,472 samples of amniotic fluid. Coco M, Salvinelli F, Greco F et al. J Prenat Med. 2013 Oct;7(4):56-8.
25. Soo-Young Choi, Kyu Yup Lee, Hyun-Jin Kim, et al. Functional Evaluation of *GJB2* Variants in Nonsyndromic Hearing Loss. Mol Med. 2011;17(5-6):550-556, doi: 10.2119/molmed.2010.00183.
26. Алексеева ЕП. Карачаевцы и балкарцы — древний народ Кавказа. — Черкесск, 1963. (http://www.elbrusoid.org/upload/iblock/8fc/karacay-balkar-drev-narod_turklib.pdf).
27. Гишев НТ. Споры вокруг этнонимов «черкес» и «адыг». Вестник адыгейского университета. Серия 2. Филология и искусствоведение. 2013;1(114):95-99.