

Новая нонсенс-мутация с.1121G>A (p.Trp374*) гена CLIC5 – основная причина ювенильной аутосомно-рецессивной формы глухоты (DFNB103), очаги накопления которой обнаружены в арктических районах Якутии

**Пшенникова В.Г.^{1,2}, Романов Г.П.^{1,2}, Николаева Т.М.³, Терютин Ф.М.^{1,3}, Борисова Т.В.²,
Комарьков И.Ф.⁴, Антоненц А.В.⁴, Соловьев А.В.^{1,2}, Кларов Л.А.¹, Бондарь А.А.⁵,
Морозов И.В.^{5,6}, Посух О.Л.^{6,7}, Хуснутдинова Э.К.^{8,9}, Федорова С.А.^{1,2}, Барашков Н.А.^{1,2}**

1 — Якутский научный центр комплексных медицинских проблем
677010, г. Якутск, ул. Сергеляхское шоссе, 4

2 — Северо-восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова
677000, г. Якутск, ул.Белинского, д. 58

3 — Республиканская больница №2 – Центр экстренной медицинской помощи
677000, г. Якутск, ул. П.Алексеева, 83 «А»

4 — ООО «Геномед»
115093, г. Москва, Подольское шоссе д.8 к.5

5 — Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук
630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8

6 — Новосибирский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1

7 — Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук
630090, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева, 10

8 — Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук
450054, г. Уфа, проспект Октября, 71

9 — Башкирский государственный университет
450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д.32

Наиболее частой причиной несиндромальной потери слуха являются мутации гена *GJB2*. Ранее было показано, что в Якутии вклад мутаций гена *GJB2* в потерю слуха среди пациентов с врожденной тугоухостью составил 49%. Целью данной работы являлся поиск молекулярно-генетических основ потери слуха среди *GJB2*-негативных пациентов, у которых причина заболевания осталась неустановленной. В исследование были включены 238 (228 неродственных) *GJB2*-негативных пациентов, среди которых мы обнаружили одну семью с 5 пораженными индивидами с ювенильной потерей слуха неизвестной этиологии (дебют заболевания варьировал от 0 до 8 лет). Путём полноэкзомного анализа (WES), проведенного у одного из пораженных членов семьи, была выявлена ранее не описанная гомозиготная замена с.1121G>A в 6-ом экзоне гена *CLIC5* (6p21.1, OMIM 607293). Данная транзикация приводит к образованию преждевременного стоп-кодона в 374-ой аминокислотной позиции (p.Trp374*), терминирующего синтез полипептидной цепи белка CLIC5 (NP_001107558.1). В гене *CLIC5* известна только одна гомозиготная замена с.96T>A (p.Cys32*), которая ранее была найдена в инбредной турецкой семье с постлингвальной прогрессирующей аутосомно-рецессивной глухотой (DFNB103). В настоящей работе гомозиготный вариант с.1121G>A (p.Trp374*) был выявлен у 26 из 238 *GJB2*-негативных пациентов (10,9%). У большинства из них (19 из 26) отмечается поздний дебют потери слуха в среднем в 9,7±0,6 лет. Аудиологическое обследование у 13 из 26 пациентов выявило преимущественно симметричную сенсоневральную прогрессирующую потерю слуха различной степени тяжести (от донозологической и I-ой степени тугоухости до глухоты). Распространенность DFNB103, обусловленной гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5*, в Якутии составила в среднем 0,27±0,05 на 10000 человек с максимальным накоплением в Эвено-Бытантайском национальном районе (31,39±10,46 на 10000 человек), который относится к арктической группе улусов, где большинство населения составляют эвены (53%). Это первый в России случай идентификации орфанного заболевания, накопление которого обнаружено в Арктике. В целом, гомозиготный вариант с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* можно расценивать как каузативный для DFNB103 с высоким вкладом в этиологию нарушений слуха у населения Якутии.

Ключевые слова: аутосомно-рецессивная глухота, тип 103 (DFNB103), ген *CLIC5*, полноэкзомное секвенирование (WES), Арктика, Республика Саха (Якутия).

Для цитирования: Пшенникова В.Г., Романов Г.П., Николаева Т.М., Терютин Ф.М., Борисова Т.В., Комарьков И.Ф., Антоненц А.В., Соловьев А.В., Кларов Л.А., Бондарь А.А., Морозов И.В., Посух О.Л., Хуснутдинова Э.К., Федорова С.А., Барашков Н.А. Новая нонсенс-мутация с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* – основная причина ювенильной аутосомно-рецессивной формы глухоты (DFNB103), очаги накопления которой обнаружены в арктических районах Якутии. *Медицинская генетика* 2019; 18(10) 36-48.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.10.36-48

Автор для корреспонденции: Пшенникова Вера Геннадьевна, e-mail: psennikovavera@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ №6.1766.2017, проекта СВФУ им. М.К.Аммосова № 0794-2017-0019 (FSRG-2017-0019) и при финансовой поддержке грантов РФФИ (17-29-06016_офи_м, 18-015-00212_A, 18-013-00738_A, 18-34-00439_мол_а, 18-05-600035_Арктика), а также программы развития биоресурсных коллекций «УНУ Геном Якутии» ЯНЦ КМП (БРК: 0556-2017-0003).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 30.10.2019

A novel nonsense mutation c.1121G>A (p.Trp374*) in the CLIC5 gene is the main cause of the juvenile autosomal recessive form of deafness (DFNB103) in the Arctic regions of Yakutia

Pshennikova V.G.^{1,2}, Romanov G.P.^{1,2}, Nikolaeva T.M.³, Teryutin F.M.^{1,3}, Borisova T.V.², Komar'kov I.F.⁴, Antonets A.V.⁴, Solovyev A.V.^{1,2}, Klarov L.A.¹, Bondar A.A.⁵, Morozov I.V.^{5,6}, Posukh O.L.^{6,7}, Khusnutdinova E.K.^{8,9}, Fedorova S.A.^{1,2}, Barashkov N.A.^{1,2}

1 — Yakut Scientific Center for Complex Medical Problems
Yakutsk, Russia

2 — M.K. Ammosov North-Eastern Federal University
Yakutsk, Russia

3 — Republican Hospital No. 2 – Center for emergency medical care
Yakutsk, Russia

4 — Genomed Ltd.
Moscow, Russia

5 — Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
Novosibirsk, Russia

6 — Novosibirsk State University
Novosibirsk, Russia

7 — Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
Novosibirsk, Russia

8 — Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences
Ufa, Russia

9 — Bashkir State University
Ufa, Russia

The most common cause of non-syndromic hearing loss in various populations of the world is the mutations in the *GJB2* gene. Previously it was shown that the pathogenic contribution of the *GJB2*-mutations among patients with congenital hearing loss in Yakutia was 49%. The aim of this work was to investigate the molecular genetic basis of hearing loss among *GJB2*-negative patients. The study included 238 (228 unrelated) *GJB2*-negative patients, among them we found one family with five affected individuals with juvenile hearing loss of unknown etiology (the disease onset varied from 0 to 8 years). Using a whole exome sequencing (WES), performed in one of affected family members, a novel homozygous c.1121G>A (6p21.1, OMIM 607293) substitution in exon 6 of the *CLIC5* gene was detected. This substitution leads to the formation of a premature stop codon at the 374 amino acid position (p.Trp374*) which terminates the synthesis of the polypeptide chain of the *CLIC5* protein (NP_001107558.1). To date, only one homozygous mutation c.96T>A (p.Cys32*) was known in human gene *CLIC5* which was found in one inbred Turkish family with progressive autosomal recessive deafness, type 103 (DFNB103). In our study, a homozygous variant c.1121G>A (p.Trp374*) was detected in 26 out of 238 *GJB2*-negative patients in Yakutia (10.9%). Most of homozygous for c.1121G>A patients (19 out of 26) reported about late onset of their hearing loss occurred in postlingual period (averaged 9.7±0.6 years). Audiological examination of 13 out of 26 patients revealed predominantly symmetric sensorineural progressive hearing loss of varying severity (from mild to profound hearing loss). The average prevalence of DFNB103 caused by the homozygous variant c.1121G>A (p.Trp374*) in Yakutia was 0.27±0.053 per 10000 with a maximum accumulation in Eveno-Bytantaysky district (31.39±10.46 per 10000) which referred to the Arctic group of districts where the majority of the population is represented by Evens (53%). This is the first case of the identification of the orphan disease with its accumulation in Arctic part of Russia. In general, the homozygous variant c.1121G>A (p.Trp374*) of the *CLIC5* gene can be regarded as causative to DFNB103 with a high contribution to the etiology of hearing impairments in the population of Yakutia.

Key words: autosomal recessive deafness, type 103 (DFNB103), *CLIC5* gene, whole exome sequencing (WES), Arctic, Republic of Sakha (Yakutia).

For citation: Pshennikova V.G., Romanov G.P., Nikolaeva T.M., Teryutin F.M., Borisova T.V., Komar'kov I.F., Antonets A.V., Solovyev A.V., Klarov L.A., Bondar A.A., Morozov I.V., Posukh O.L., Khusnutdinova E.K., Fedorova S.A., Barashkov N.A. A novel nonsense mutation c.1121G>A (p.Trp374*) in the *CLIC5* gene is the main cause of the juvenile autosomal recessive form of deafness (DFNB103) in the Arctic regions of Yakutia. *Medical genetics* 2019; 18(10): 36-48. [In Rus].

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.10.36-48

Corresponding author. Pshennikova Vera, e-mail: psennikovavera@mail.ru

Funding. The work was carried out in the framework of the state task of the Ministry of science and higher education of the Russian Federation № 6.1766.2017, M. K. Ammosov NEFU project. No. 0794-2017-0019 (FSRG-2017-0019) and with the financial support of RFBR grants (17-29-06016_ofi_m, 18-015-00212_A, 18-013-00738_A, 18-34-00439_mol_a, 18-05-600035_arctic), as well as the program for the development of bioresource collections "UNU Genome of Yakutia" YSC CMP (DBK: 0556-2017-0003).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 30.10.2019

Введение

В диагностике наследственных нарушений слуха высокую информативность обеспечивает анализ генов *GJB2* (Cx26), *GJB6* (Cx30) и *GJB3* (Cx31), ответственных за аутосомно-рецессивную глухоту 1A типа (DFNB1A; OMIM 220290) [1]. DFNB1A встречается в мире с частотой 14:100000 населения [2]. Ранее, молекулярно-генетические исследования причин наследственных нарушений слуха у населения Якутии (n=393) были направлены на поиск мутаций в генах *GJB2*, *GJB6* и *GJB3* [3-5]. Было показано, что вклад в нарушение слуха у 49% пациентов из Якутии приходится на гомозиготные/компаунд-гетерозиготные мутации гена *GJB2*. У остальных пациентов причина потери слуха осталась неустановленной. Протяженная делеция c.del(*GJB6*-D13S180) (180 т.п.н.), которая захватывает большую часть гена *GJB6*, была выявлена в сочетании с гетерозиготными мутациями c.35delG (p.Gly12ValfsX2) и c.101T>C (p.Met34Trp) гена *GJB2* только у двух глухих пациентов из одной русской семьи [5]. Достоверную связь двух других вариантов, обнаруженных в кодирующей последовательности генов *GJB6* и *GJB3*, с нарушениями слуха у пациентов из Якутии не удалось установить вследствие неоднозначной *in silico* оценки патогенетической значимости выявленных миссенс-вариантов c.580G>A (p.Ala194Thr) в гене *GJB3* и c.301G>A (p.Glu101Lys) в гене *GJB6* [5]. С учетом разнообразия генетического контроля известных наследственных форм глухоты, потеря слуха у части *GJB2*-негативных (не имеющих мутаций в этом гене) пациентов, вероятно, может быть обусловлена мутациями в других генах, ассоциированных с нарушениями слуха, которых в настоящее время идентифицировано более 100 (Hereditary Hearing Loss Homepage — <http://hereditaryhearingloss.org>) [6].

В выборке *GJB2*-негативных пациентов с потерей слуха из Якутии (n=238) нами была выявлена одна

семья с 5 пораженными индивидами с ювенильной (постлингвальной) потерей слуха неизвестной этиологии (дебют заболевания варьировал в возрасте от 0 до 8 лет). Клинико-генеалогический анализ, проведенный в данной семье, выявил сегрегацию потери слуха по аутосомно-рецессивному типу. Кроме нарушений слуха, других нарушений у членов семьи не было выявлено [7]. У трех пациентов речь была сохранна, однако только один из них окончил массовую школу. Все, кроме одного члена семьи старшего поколения (65 лет), обучались в коррекционных школах для глухих или слабослышащих детей, куда они были переведены из начальных или средних классов массовых школ. Проведенный нами клинико-аудиологический анализ позволил выявить общие характеристики нарушений слуха у пациентов из данной семьи. Для них была характерна двухсторонняя, сенсоневральная, прогрессирующая потеря слуха, которая проявлялась после периода речевого развития и к этому сроку становилась клинически значимой, т.е. затрагивала речевой диапазон частот и требовала слухоречевой реабилитации, в том числе с применением технических средств (кохлеарная имплантация или слуховой аппарат) [7]. Все эти пациенты не имели клинически значимых изменений в последовательности гена *GJB2*, а также в последовательностях других генов (*GJB3*, *GJB6*, *SLC26A4*, *POU3F4* и *12S rRNA* мтДНК), мутации в которых ранее были обнаружены у пациентов из Якутии [4, 5, 8–10].

В связи с этим целью настоящего исследования являлся поиск с применением методов массивного параллельного секвенирования (полноэкзомное секвенирование) молекулярно-генетических причин возникновения редкой формы аутосомно-рецессивной ювенильной потери слуха, обнаруженной в выборке *GJB2*-негативных пациентов из Якутии.

Методы

GJB2-негативные пациенты

В исследование были включены образцы геномной ДНК 238 пациентов (из них 228 неродственных), не имеющих клинически значимых мутаций в гене *GJB2* (*GJB2*-негативные), ответственных за аутосомно-рецессивную глухоту 1А типа (DFNB1A, OMIM 220290): ранее обследованных 166 пациентов с тугоухостью/глухотой из Якутии [3–5], 64 индивидов из Всероссийского общества глухих (г. Якутск) [11] и 8 индивидов с тугоухостью из сел Батагай-Алыта и Кустур Эвено-Бытантайского национального района [7]. В исследуемой выборке мужчины составили 44,5% (n=106), женщины – 55,5% (n=132), средний возраст $28,3 \pm 0,3$ лет. Этнический состав: якуты 60,9% (n=145), русские 18,9% (n=45), эвены 4,6% (n=11), эвенки 1,7% (n=4) и потомки от межэтнических браков 13,9% (n=33).

Семья с ювенильной формой потери слуха

Для сбора детальной информации, необходимой для клинико-генеалогического анализа, на предварительном этапе исследования были проведены экспедиции в Эвено-Бытантайский национальный район Якутии, где проживает семья с пятью индивидами с ювенильной формой потери слуха [7]. Получены данные о 67 членах одной родословной, в которой были сибсы и двоюродные родственники с признаками постлингвальной формы глухоты неизвестной этиологии, предположительно сегрегирующей по аутосомно-рецессивному типу наследования [7]. Молекулярно-генетическое исследование генов *GJB2* и *CLIC5* было проведено у 10 человек из этой семьи, из которых 5 имели признаки ювенильной формы потери слуха, 5 – слышащие индивиды, не имевшие жалоб на снижение слуха.

Клинико-аудиологический анализ

Клинико-аудиологическое исследование было проведено в ГБУ РС(Я) «Республиканский сурдологический центр Республиканской больницы №1 – Национальный центр медицины», а также в экспедиционных условиях с использованием аудиометра-тимпанометра «АА222» («Interacoustics», Дания). Пороги слышимости измеряли 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, 2,0, 4,0 кГц шагом 5,0 дБ. Степень потери слуха оценивали по порогам слышимости лучше слышащего уха в речевом диапазоне частот (РДЧ) по международной классификации, согласно которой I степень соответствует 26–40 дБ в РДЧ, II степень – 41–55 дБ, III степень – 56–70 дБ, IV степень – 71–90 дБ, глухота >90 дБ.

Молекулярно-генетические методы исследования

Полноэкзомное секвенирование (WES, whole exome sequencing) ДНК исследуемого пробанда было проведено на приборе Illumina NextSeq 500 методом парно-концевого чтения (2x151 п.н.) со средним покрытием не менее 70–100х. Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям генов человека. Обработка данных полноэкзомного секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и их фильтрацию по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением методов предсказания функциональной значимости замен (SIFT, PolyPhen2 – HumDiv/HumVar, MutationTaster, LRT) и расчета эволюционной консервативности позиций (PhyloP, PhastCons). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные из проектов «1000 Genomes Project», ESP6500 и Exome Aggregation Consortium. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы базы данных OMIM, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и данные литературы. Верификация результатов полноэкзомного секвенирования была проведена как секвенированием по Сэнгеру, так и ПЦР-ПДРФ анализом.

Фрагмент 6-го экзона гена *CLIC5*, в котором локализована мутация с.1121G>A, анализировался секвенированием по Сэнгеру. 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 гелевидеодокументации Molecular Imager Gel Doc XR («Bio-Rad», США). Амплифицированные фрагменты очищали от компонентов ПЦР на магнитных частицах AMPure XP («Beckman Coulter», США) и проводили реакции секвенирования по Сэнгеру с использованием BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США). Невключившиеся флуоресцентные BigDye терминаторы удаляли путём гелефильтрации через колонку с сорбентом Sephadex G-50 DNA grade («GE Healthcare», Германия). Определение нуклеотидной последовательности фрагментов гена *CLIC5* проводили на автоматическом анализаторе ABI Prism 3130XL («Applied Biosystems», США) в ЦКП «Ге-

номика» СО РАН (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск). Для анализа секвеннограмм использовали программы Sequence Analysis Version 5.4 и Chromas v.2.0.

ПЦР-ПДРФ-анализ проведен с использованием разработанного способа ДНК-диагностики аутосомно-рецессивной глухоты, тип 103 (DFNB103). Последовательности используемых в работе оригинальных праймеров и способы детекции мутации с.1121G>A (p.Trp347*) в гене *CLIC5* доступны по запросу.

Эпидемиологические данные

Общая информация о коренных малочисленных народах Севера, Сибири и Дальнего Востока России была получена из источников URL: <http://www.raipon.info/peoples/evens/evens.php> и <http://www.perepis2002.ru/index.html?id=11>. Сведения об этническом составе и численности населения муниципальных образований Якутии получены по информационным источникам территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Республике Саха (Якутия) (<http://sakha.gks.ru>). Территориальная распространенность DFNB103, обусловленной гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5*, в районах (улусах) Республики Саха (Якутия) рас-

считана на 10 000 человек, а также на общую численность населения.

Этический контроль

Обследования, предусмотренные рамками данной научно-исследовательской работы, проводились после информированного письменного согласия участников или их родителей. Научно-исследовательская работа одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП в 2014 г. (г. Якутск, протокол №41 от 12 ноября 2014 г.).

Результаты

Идентификация варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5*

Детальное клинико-генеалогическое изучение выборки *GJB2*-негативных пациентов из Якутии (n=238) позволило выявить расширенную семью эвенов с 5 пораженными индивидами с ювенильной потерей слуха неизвестной этиологии (дебют заболевания варьировал от 0 до 8 лет). Анализ родословных показал, что данные пациенты происходят из трех ядерных семей, относящихся к одной родословной, фрагмент которой представлен на **рис. 1**. В исследование были включены про-

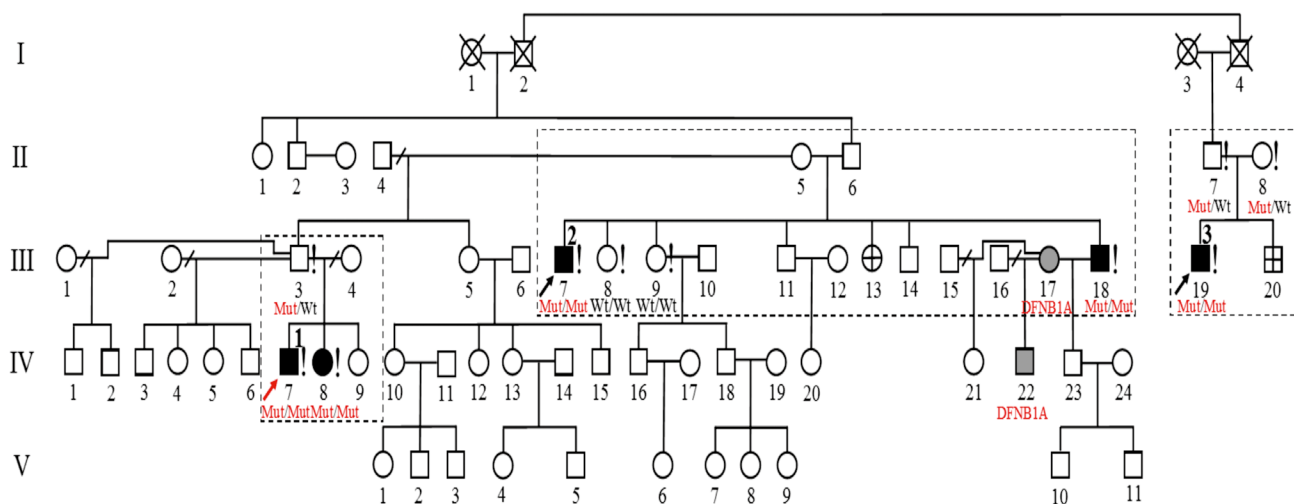


Рис. 1. Фрагмент родословной семьи с 5 индивидами с ювенильной формой потери слуха (DFNB103) и двумя индивидами с аутосомно-рецессивной глухотой 1А типа (DFNB1А). Условные обозначения: черным цветом обозначены глухие члены семьи, гомозиготные по мутации с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* (III:7, III:18, III:19, IV:8); серым - члены семьи с аутосомно-рецессивной глухотой 1А типа, обусловленной гомозиготными с.[-23+1G>A];[-23+1G>A] (III:17) и компаунд-гетерозиготными с.[-23+1G>A];[35delG] (IV:22) мутациями гена *GJB2* (DFNB1А); плюсом внутри символа - члены семьи, имеющие признаки ювенильной формы потери слуха, со слов близких родственников; восклицательным знаком - обследованные лично; пунктиром выделены ядерные семьи, стрелкой и нумерацией сверху обозначены пробанды; красной стрелкой обозначен пробанд, у которого был проведен полноэкзомный анализ; косая линия - брак расторгнут; Mut - мутация с.1121G>A (p.Trp374*), Wt - норма.

банд 1 (IV:7), сибс пробанда 1 (IV:8), пробанд 2 (III:7), сибс пробанда 2 (III:18) и пробанд 3 (III:19), а также 5 слышащих членов семьи: отец пробанда 1 (III:3), сибсы пробанда 2 (III:8 и III:9) и родители пробанда 3 (II:7 и II:8). Отметим, что члены семьи III:13 и III:20 нами не были обследованы, но, со слов близких родственников, они также имели признаки ювенильной потери слуха.

С целью поиска причин потери слуха в этой семье пробанду 1 (IV:7) был проведен полноэкзомный анализ. В результате была выявлена ранее не описанная (отсутствует в литературе и в базах данных OMIM, HGMD, ClinVar) гомозиготная замена с.1121G>A (chr6:45880291C>T_GrCh37.p13) в 6-ом экзоне гена *CLIC5* (OMIM 607293, 6p21.1), приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона p.Trp374*, терминирующего трансляцию полноразмерного белка *CLIC5* (chloride intracellular channel 5, NP_001107558.1). Идентификация варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* представлена на **рис.2**.

Поиск варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* в семье пробанда 1

В семье, представленной на рис.1, был проведен таргетный поиск выявленного нового варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* путём ПЦР-ПДРФ анализа значимого фрагмента 6-го экзона гена *CLIC5*, с последующей верификацией результатов прямым секвенированием по Сэнгеру, в результате которого у всех 5 пораженных индивидов (III:7, III:18, III:19, IV:7, IV:8) замена с.1121G>A (p.Trp374*) была обнаружена в гомозиготном состоянии (Mut/Mut). У отца пробанда 1 (III:3) и родителей пробанда 3 (II:7 и II:8) с нормальным слухом было обнаружено гетерозиготное носительство мутантного аллеля (Mut/Wt). У здоровых (нормально слышащих) сибсов пробанда 2 (III:8 и III:9) замена не была обнаружена (Wt/Wt) (**рис. 1**). Отметим, что поиск варианта с.1121G>A (p.Trp374*) у двух глухих членов семьи III:17 и IV:22

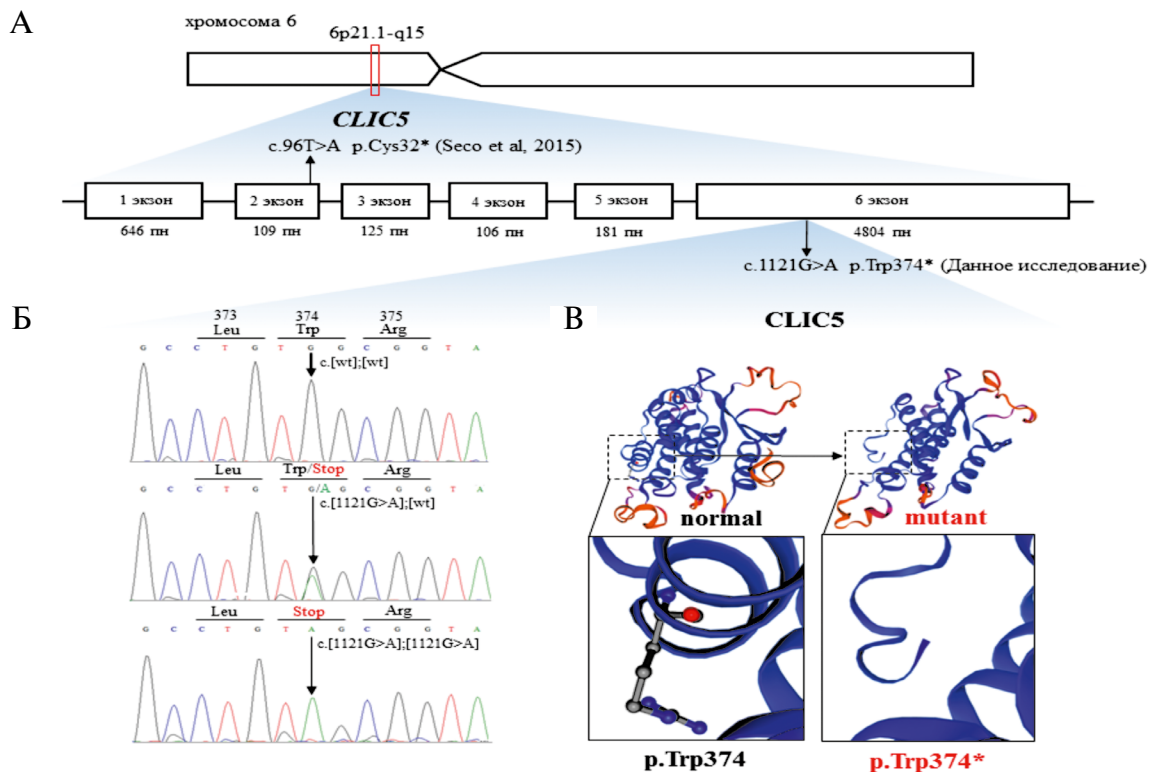


Рис. 2. Идентификация замены с.1121G>A (p.Trp374*) в 6-ом экзоне гена *CLIC5*. А - схематическое изображение структуры гена *CLIC5* в локусе 6p21.1-q15; стрелками показаны мутации, обнаруженные в гене *CLIC5* (NCBI GRCh37.p13: NC_000006.11; NM_001114086.1; NP_001107558.1). Б - результаты секвенирования по Сэнгеру (сверху вниз): c.[wt];[wt] (норма), c.[1121G>A];[wt] (гетерозигота), c.[1121G>A];[1121G>A] (гомозигота). В - трехмерная структура белка *CLIC5*, слева - нормальный белок, справа - мутантный (укороченный). Внизу, крупным планом показана область 374-ой аминокислотной последовательности *CLIC5*; слева в норме триптофан, справа - укороченная петля полипептидной цепи, образовавшаяся вследствие преждевременного стоп-кодона (Q9NZA1; <https://swissmodel.expasy.org/interactive/WVgFkF/models/>).

Таблица 1

Характеристика пациентов с гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5*

Шифр ДНК	<i>GLJB2</i> -генотип	<i>CLIC5</i> -генотип	Пол	Возраст (на момент обследования)	Степень потери слуха	Возраст манифестации потери слуха	Речь/жесты	Слухопротезирование/обучение	Национальность	Место рождения (район/улице)
AB28*	c.[79G>A]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	13	Сенсоневральная тугоухость IV ст. с обеих сторон	4 года	речь/жесты	СА/ШС	Эвенк	Эвено-Бытантайский*
AB1037	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	12	Сенсоневральная тугоухость IV ст. с обеих сторон	7-8 лет	речь/жесты	СА/ШС	Эвенка	Эвено-Бытантайский*
1235	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	29	Глухота с обеих сторон	4 года	речь/жесты	нет/ШГ	Эвен	Эвено-Бытантайский*
1255	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	65	Глухота с обеих сторон	7 лет	жесты	нет/нет	Эвен	Эвено-Бытантайский*
99	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	54	Глухота с обеих сторон	с рождения	жесты	нет/ШГ	Эвен	Эвено-Бытантайский*
AB447	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	21	Сенсоневральная тугоухость III ст. с обеих сторон	нет данных	нет данных	Н/Д	Эвен	Эвено-Бытантайский*
1210	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	62	Смешанная тугоухость I ст. с обеих сторон	60 лет	речь	нет/МШ	Эвенка	Эвено-Бытантайский*
1211	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	34	Смешанная тугоухость II ст. с обеих сторон	14 лет	речь	нет/МШ	Эвенка	Эвено-Бытантайский*
1213	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	36	Двустороннее повышение порогов слуха	нет данных	речь	нет/МШ	Эвенка	Эвено-Бытантайский*
AA6283	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	17	Сенсоневральная тугоухость III-IV ст. с обеих сторон	7-8 лет	речь/жесты	СА/ШС	Эвенк	Булунский*
AB1050	c.[79G>A]:[79G>A]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	15	Глухота с обеих сторон	4 года	жесты	СА/ШС	Эвенк	Оленекский*
195	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	23	Глухота с обеих сторон	нет данных	речь/жесты	СА/МШ	Эвенкийка	Оленекский*
AB2181	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	9	Сенсоневральная тугоухость III ст. с обеих сторон	6-7 лет	речь	КИ/МШ	Якут	г. Якутск**
AA7602	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	10	Сенсоневральная тугоухость II-III ст.	4 года	речь	КИ/РШ	Якутка	г. Якутск**
AB3477	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	7	Сенсоневральная тугоухость III ст. с обеих сторон	6 лет	речь	СА/МШ	Якутка	г. Якутск**
AA5634	c.[79G>A]:[79G>A];34(A>G)	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	35	нет данных	нет данных	нет данных	нет данных	Якутка	Горный**
105	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	49	Глухота с обеих сторон	с рождения	жесты	нет/ШГ	Якутка	Горный**
91	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	40	Глухота с обеих сторон	10 лет	речь/жесты	нет/ШС	Якутка	Намский**
46	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	42	Глухота с обеих сторон	6 лет	жесты	нет/ШГ	Якутка	Хангаласский**
AB3182	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	5	Сенсоневральная тугоухость III ст. с обеих сторон	3-4 года	речь	КИ/МШ	Якут	Нюрбинский**
AA8492	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	21	Глухота с обеих сторон	10-12 лет	речь/жесты	нет/ШГ	Якут	Нюрбинский**
127	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	34	Глухота с обеих сторон	9-10 лет	речь/жесты	нет/ШС	Якутка	Нюрбинский**
AA8751	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	м	45	нет данных	нет данных	нет данных	Н/Д	Якут	Сунтарский**
AB1067	c.[_23+1G>A]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	14	Глухота с обеих сторон	6 лет	речь/жесты	СА/ШС	Якутка	Сунтарский**

Продолжение табл. 1 см. на стр. 43

Характеристика пациентов с гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* (окончание)

Шифр ДНК	<i>GJB2</i> -генотип	<i>CLIC5</i> -генотип	Пол	Возраст (на момент обследования)	Степень потери слуха	Возраст манифестации потери слуха	Речь/жесты	Слухопротезирование/обучение	Национальность	Место рождения (район/уезд)
62	c.[1121G>A]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	39	Глухота с обеих сторон	24 года	жесты	нет/ШГ	Якутка	Оймяконский [#]
28	c.[wt]:[wt]	c.[1121G>A]:[1121G>A]	ж	55	Глухота с обеих сторон	10 лет	речь/жесты	СА/МШ	Якутка	Олекминский [#]
Всего	c.[1121G>A]:[wt]: 2 c.[79G>A]:[wt]: 1 c.[79G>A]:[79G>A]: 1 c.[79G>A]:[79G>A]:[341A>G]: 1 c.[wt]:[wt]: 21	c.[1121G>A]:[1121G>A]: 26 (22 неродственных)	М – 11 (42,3%) Ж – 15 (57,7%)	В среднем: 30,2±1,0 лет	Повышение порогов слуха: 1 (3,8%) Тугоухость I: 1 (3,8%) Тугоухость II: 2 (7,7%) Тугоухость III: 5 (19,2%) Тугоухость IV: 2 (7,7%) Глухота: 13 (50%) нет данных: 2 (7,7%)	В среднем: 9,7±0,6 лет	Речь: 7 (26,9%) Речь/жесты: 10 (38,4%) Жесты: 6 (23%) нет данных: 3 (11,5%)	СА: 7 (26,9%) КИ: 3 (11,5%) Специшкола (ШС, ШГ, РШ): 14 (53,8%) МШ: 8 (30,7%)	Якуты: 14 (53,9%) Эвены: 9 (34,6%) Эвэнки: 3 (11,5%)	Из арктических районов: 12 (46,2%) Из районов, не входящих в Арктическую зону России: 14 (53,8%)

Примечание: * – пробанд, у которого было проведено полноэкзомное секвенирование; серым цветом обозначены сибсы. Коррекционные школы: ШС – школа для слабослышащих детей, ШГ – школа для глухих детей, РШ – речевая школа; МС – массовая школа. Технические средства реабилитации: КИ – кохлеарный имплант, СА – слуховой аппарат. # – Арктические районы, ## – Районы, не входящие в Арктическую зону России.

не проводился, поскольку ранее проведенный молекулярно-генетический анализ выявил у них наличие мутаций гена *GJB2*, обуславливающих аутосомно-рецессивную глухоту 1А типа (DFNB1A; OMIM 220290). Так, у III:17 была обнаружена гомозиготная мутация сайта сплайсинга с.-23+1G>A, а у IV:22 мутация с.-23+1G>A в компаунд-гетерозиготном состоянии с мутацией с.35delG (p.Gly12ValfsX2) гена *GJB2* (рис. 1). Таким образом, анализ *CLIC5*-генотипов по мутации с.1121G>A (p.Trp374*), проведенный в исследованной семье, демонстрирует косегрегацию мутантного аллеля с.1121G>A в гомозиготном состоянии с признаками ювенильной формы потери слуха в соответствии с аутосомно-рецессивным типом наследования.

Скрининг варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* среди *GJB2*-негативных пациентов

В результате скрининга варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* среди 238 (228 неродственных) *GJB2*-негативных пациентов (ПЦР-ПДРФ анализ и секвенирование по Сэнгеру фрагмента 6-го экзона гена *CLIC5*) эта замена была обнаружена у 33 пациентов, из них у 26 (22 неродственных) – в гомозиготном, а у 7 неродственных пациентов – в гетерозиготном состоянии. Таким образом, полученные результаты показали, что у 10,9% (26 из 238) обследованных *GJB2*-негативных пациентов потеря слуха, вероятнее всего, связана с гомозиготной нонсенс-мутацией с.1121G>A (p.Trp374*), у остальных пациентов (n=212) причина нарушения слуха остается невыясненной. Аллельная частота варианта с.1121G>A, рассчитанная в выборке неродственных пациентов (n=228), составила 11,18%.

Характеристика (пол, возраст, этническая принадлежность и др.) выборки пациентов с гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* (n=26) представлена в табл. 1. В данной группе пациентов большинство (19 из 26) отмечали поздний дебют потери слуха, возникшей в постлингвальном возрасте (в среднем в 9,7±0,6 лет). Аудиологическое обследование у 13 из 26 пациентов выявило преимущественно симметричную сенсоневральную потерю слуха различной степени тяжести: донозологическое повышение порогов слышимости у одного обследованного, I степень тугоухости у 1 чел., II степень у 2 чел., III степень у 5 чел., IV степень у 2 чел. и глухоту у 13 чел. У большинства пациентов (17 из 26) отмечалась сохранная речь, при этом в массовой школе обучались 8 человек (30,7%), в специализированных коррекционных школах для слабослышащих или глухих детей 14 (53,8%).

Обсуждение

В настоящем исследовании впервые представлены результаты поиска причин потери слуха у 238 *GJB2*-негативных пациентов из Якутии, у которых генетическая причина заболевания осталась неустановленной. После проведенного клинико-генеалогического изучения выборки *GJB2*-негативных пациентов была выявлена семья эвенков с 5 пораженными индивидами с ювенильной потерей слуха неизвестной этиологии. С целью поиска причин потери слуха в этой семье у одного из пораженных членов семьи был проведен полноэкзомный анализ, в результате которого была выявлена ранее не описанная гомозиготная замена с.1121G>A (p.Trp374*) в 6-ом экзоне гена *CLIC5*, расположенного на хромосоме 6. Поскольку данная нуклеотидная замена приводит к терминации трансляции полноразмерного белка CLIC5, она была расценена как вероятно патогенная.

В настоящее время, по данным OMIM, в гене *CLIC5* известна только одна патогенная замена с.96T>A (p.Cys32*), которая ассоциирована с одним из вариантов аутосомно-рецессивной потери слуха — DFNB103 (OMIM 607293) [12]. Ген *CLIC5* был идентифицирован в качестве кандидата на участке хромосомы 6 (6p21.1-q15), локализованном методом гомозиготного картирования при выяснении причин потери слуха в одной турецкой семье, в которой потомки от близкородственного брака (двоюродные брат и сестра) имели постлингвальную прогрессирующую потерю слуха (от легкой до тяжелой степени тугоухости) [12]. Поиск мутаций в гене *CLIC5* у пораженных членов этой семьи выявил гомозиготную мутацию с.96T>A (p.Cys32*). В результате скрининга 213 пациентов с аутосомно-рецессивной тугоухостью преимущественно голландского и испанского происхождения, а также в контрольной выборке индивидуумов (n=111) мутация с.96T>A (p.Cys32*) не была обнаружена [12]. Исходя из этого, авторы предположили, что идентифицированная нонсенс-мутация с.96T>A (p.Cys32*) гена *CLIC5* является уникальной для данной инбредной семьи или же очень редкой.

Ген *CLIC5* (chloride intracellular channel 5) кодирует белок внутриклеточного канала 5 (CLIC5), который участвует в транспорте ионов хлора в различных субклеточных компартментах [13, 14]. В исследовании Seco с соавт. обнаружено, что белок CLIC5 экспрессируется во многих тканях как плода, так и взрослого человека, причем уровень экспрессии в тканях внутреннего уха плода был в 26 раз выше, чем в печени, где был зафиксирован самый низкий уровень экспрессии данного гена [12]. У мышей мутантной линии *jitterbug* (*jbg*),

гомозиготных по делеции в гене-ортологе *Clc5*, приводящей к отсутствию синтеза белка Clc5, наблюдались нарушения слуха и вестибулярная дисфункция, обусловленные прогрессирующей дегенерацией сенсорных волосковых клеток [15]. Совокупность этих данных позволила Seco с соавт. постулировать ассоциацию гена *CLIC5* с нарушениями слуха у человека [12].

В настоящей работе, результаты полноэкзомного секвенирования были подтверждены методами ПЦР-ПДРФ анализа и секвенирования по Сэнгеру фрагмента 6-го экзона гена *CLIC5* в семье пробанда 1 (IV:7), у которого была обнаружена замена с.1121G>A (p.Trp374*) в гомозиготном состоянии. В результате поиска замены с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* у пораженных членов расширенной семьи все 5 индивидов с признаками ювенильной глухоты оказались гомозиготами по данной мутации, слышащие родственники пробандов — гетерозиготами, либо не имели изменений в исследуемом фрагменте гена *CLIC5* (рис. 1).

При молекулярно-генетическом скрининге мутация с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* в общей выборке *GJB2*-негативных пациентов (n=238) была обнаружена у 33 (13,8%) индивидов: в гомозиготном состоянии — у 26 пациентов (10,9%), в гетерозиготном — у 7 человек (2,9%). Таким образом, вклад патогенного варианта с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* в этиологию нарушения слуха у *GJB2*-негативных пациентов в Якутии составил 10,9%. Глухие гетерозиготы по варианту с.1121G>A (p.Trp374*) (n=7), вероятно, являются случайными гетерозиготными носителями данной мутации. Кроме того, нами не исключается наличие у данных пациентов второй «неопознанной» гетерозиготной мутации гена *CLIC5* в компаунд-гетерозиготном состоянии. Для однозначного ответа необходимы дальнейшие молекулярно-генетические исследования частоты гетерозиготного носительства с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* в популяциях Восточной Сибири, а также экстенсивные исследования по поиску других возможных мутаций в последовательности данного гена.

Аудиологическое обследование 13 из 26 пациентов выявило преимущественно симметричную сенсоневральную потерю слуха различной степени тяжести, вероятно, прогрессирующую с возрастом. Характерным признаком у большинства гомозигот по варианту с.1121G>A (p.Trp374*) (19 из 26) был относительно поздний дебют потери слуха (по отношению к врожденной потере слуха), который в среднем составил $9,7 \pm 0,6$ лет. Кроме того, у 17 из 26 человек отмечалась сохранная речь (из них у 10 человек были сформированы навыки жестового общения), при этом в массовой школе обучались 8 человек (30,7%), в специализированных коррекционных школах для слабослышащих

или глухих детей — 14 (53,8%) (табл. 1). Потеря слуха, возникшая после окончания сенситивного периода речевого развития (т.е. после 4–5 лет и старше), может привести к полной деградации и распаду словесной речи, что обуславливает необходимость система-

тической коррекционно-развивающей работы по сохранению навыков устной речи у таких пациентов [16].

Для молекулярно-эпидемиологической оценки распространенности на территории Якутии аутосомно-рецессивной глухоты DFNB103, обусловленной

Таблица 2

Территориальная распространенность DFNB103, обусловленной гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5*, в Якутии

№	Муниципальные образования (городской округ, район)	Численность населения по данным ВПН-2010 (14.10.2010)	Число пациентов с гомозиготной мутацией с.1121G>A гена <i>CLIC5</i>	Распространенность DFNB103 в районе на 10000 чел. (на общую численность населения)
1	г. Якутск (городской округ)	286160	3	0,10±0,06 (1:95386)
2	пгт. Жатай (городской округ)	9504	-	-
3	Намский	23198	1	0,43±0,43 (1:23198)
4	Хангаласский	34052	1	0,29±0,29 (1:34052)
5	Мегино-Кангаласский	31278	-	-
6	Амгинский	17183	-	-
7	Чурапчинский	20387	-	-
8	Таттинский	17242	-	-
9	Усть-Алданский	22155	-	-
10	Горный	11706	2	1,70±1,21 (1:5853)
11	Вилуйский	25222	-	-
12	Верхневилуйский	21661	-	-
13	Сунтарский	25140	2	0,79±0,56 (1:12570)
14	Нюрбинский	25258	3	1,18±0,68 (1:8419)
15	Кобяйский	13680	-	-
16	Томпонский	14099	-	-
17	Оймяконский	10109	1	0,98±0,98 (1:10109)
18	Момский	4452	-	-
19	Верхнеколымский	4723	-	-
20	Среднеколымский	7897	-	-
21	Нижнеколымский	4664	-	-
22	Жиганский национальный	4296	-	-
23	Верхоянский	12815	-	-
24	Эвено-Бытантайский национальный	2867	9	31,39±10,46 (1:318)
25	Оленекский национальный	4127	2	4,84±3,43 (1:2063)
26	Абыйский	4425	-	-
27	Аллаиховский	3050	-	-
28	Усть-Янский	8056	-	-
29	Булунский	9054	1	1,10±1,10 (1:9054)
30	Анабарский национальный	3501	-	-
31	Усть-Майский	8629	-	-
32	Алданский	42632	-	-
33	Нерюнгринский	82766	-	-
34	Олекминский	26785	1	0,39±0,39 (1:26785)
35	Ленский	39765	-	-
36	Мирнинский	75990	-	-
	ВСЕГО	958528	26	0,27±0,053 (1:36866)

Примечание: в таблице использованы данные интернет-портала территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Республике Саха (Якутия) (<http://sakha.gks.ru>). Жирным шрифтом выделены районы, где распространенность DFNB103 оказалась выше 1 на 10000 жителей.

гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5*, все 26 выявленных гомозигот по мутации с.1121G>A были распределены по муниципальным образованиям в соответствии с указанными ими местами рождения (табл. 2). Средняя территориальная распространенность DFNB103 в Республике Саха (Якутия) составила $0,27 \pm 0,05$ на 10000 населения с максимальным накоплением в Эвено-Бытантайском национальном районе ($31,39 \pm 10,46$ на 10000). Данный район относится к арктической группе улусов (районов) Республики Саха (Якутия), расположенных за северным полярным кругом, где в основном проживают представители коренных малочисленных народов Севера, Сибири и Дальнего Востока России — эвены (53,1%) (рис. 3). Эвены (ламуты) — кочевой сибирский народ,

общей численностью около 20000 человек. Эвенский язык относится к тунгусо-манчжурской группе алтайской языковой семьи (<http://www.raipon.info/peoples/evens/evens.php>). Традиционный тип хозяйствования — оленеводство. Эвены проживают преимущественно на востоке России. По данным переписи 2002 года в Республике Саха (Якутия) проживало 11657 чел., в Магаданской области — 2527 чел., в Камчатской области — 1779 чел. (из них в Корякском автономном округе — 751 чел.), в Чукотском автономном округе — 1407 чел., в Хабаровском крае — 1272 чел. (<http://www.perepis2002.ru/index.html?id=11>).

Наше сообщение о накоплении аутосомно-рецессивной формы глухоты (DFNB103), обусловленной гомозиготным вариантом с.1121G>A (p.Trp374*) ге-

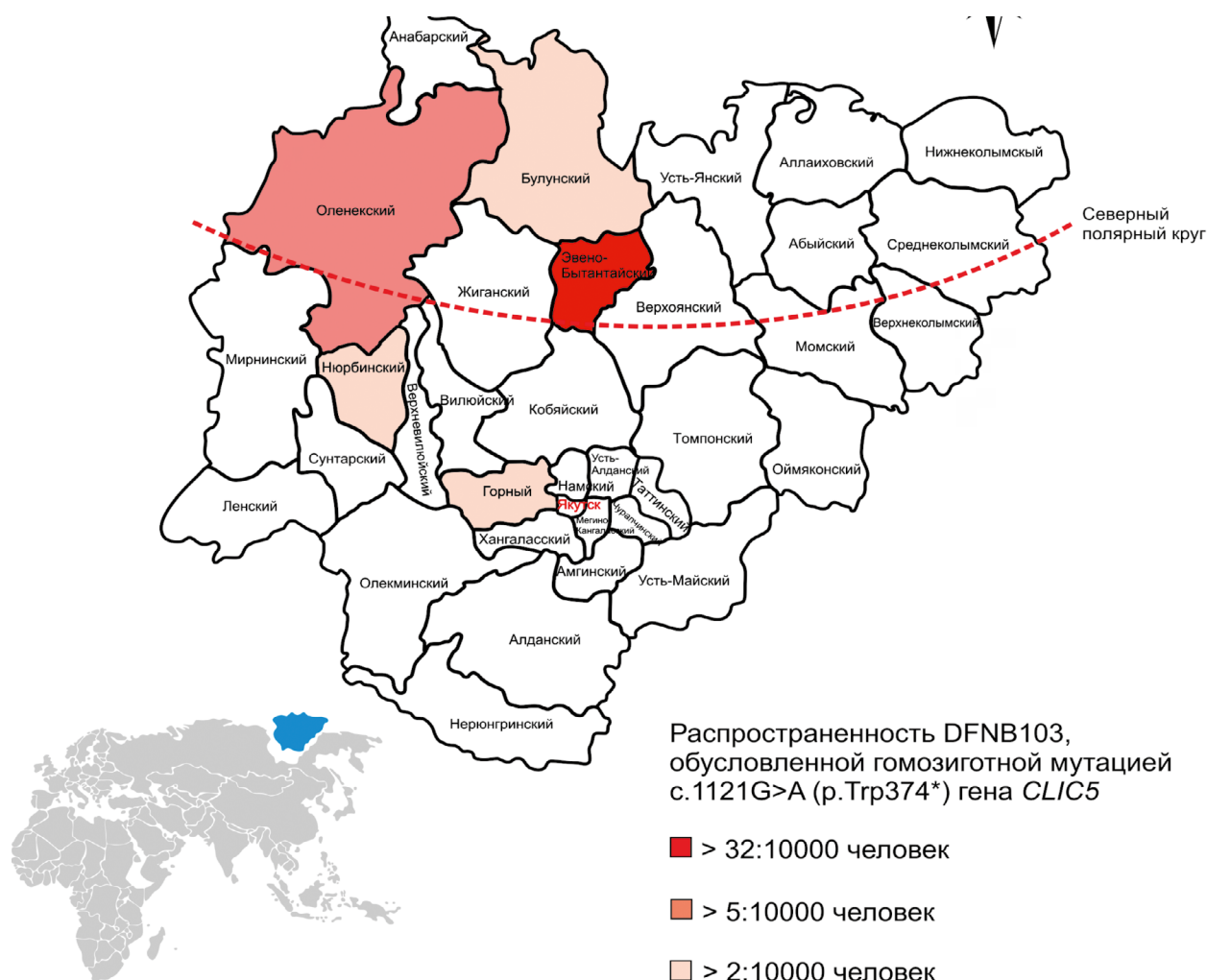


Рис. 3. Территориальная распространенность DFNB103, обусловленная гомозиготной заменой с.1121G>A (p.Trp374*) гена *CLIC5* в Якутии.

на *CLIC5*, в Эвено-Бытантайском национальном улусе Якутии — первый в России случай идентификации орфанного заболевания, накопление которого обнаружено в Арктике среди коренных малочисленных народов Севера. Высокая доля (10,9%) индивидов, гомозиготных по мутации с.1121G>A (р.Trp374*) гена *CLIC5*, среди *GJB2*-негативных пациентов позволяет предположить существенную роль эффекта основателя в распространенности этого патогенного варианта гена *CLIC5* в арктических районах Якутии. Эти данные свидетельствуют об актуальности скрининга варианта с.1121G>A (р.Trp374*) гена *CLIC5*, обуславливающего данную форму потери слуха, среди глухих пациентов из других циркумполярных регионов, а также, возможно, среди автохтонного населения Камчатки, Чукотки, Курильских островов и арктического побережья Северной Америки. В целом гомозиготный вариант с.1121G>A (р.Trp374*) гена *CLIC5* можно расценивать как каузативный по отношению к аутосомно-рецессивной глухоте 103 типа (DFNB103) с высоким вкладом в этиологию нарушений слуха у населения Якутии.

Список литературы

- Del Castillo F.J., Del Castillo I. DFNB1 Non-syndromic Hearing Impairment: Diversity of Mutations and Associated Phenotypes. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10: 428. doi: 10.3389/fnfmol.2017.00428. eCollection 2017.
- Smith R.J.H., Jones M.K.N. EditorsIn: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *SourceGeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. 1998 Sep 28 [updated 2016 Aug 18].
- Пшениникова В.Г., Барашков Н.А., Терютин Ф.М. и др. Анализ спектра и частоты *GJB2*-мутаций у пациентов с врожденными нарушениями слуха в Республике Саха (Якутия). *Медицинская генетика*. 2015; 6(156): 10-23.
- Barashkov N.A., Pshennikova V.G., Posukh O.L. et al. Spectrum and Frequency of the GJB2 Gene Pathogenic Variants in a Large Cohort of Patients with Hearing Impairment Living in a Subarctic Region of Russia (the Sakha Republic). *PLoS One*. 2016; 11(5): e0156300. doi: 10.1371/journal.pone.0156300
- Пшениникова В.Г., Барашков Н.А., Соловьев А.В. и др. Поиск мутаций в генах *GJB6* (Cx30) и *GJB3* (Cx31) у глухих пациентов с моноаллельными мутациями гена *GJB2* (Cx26) в Якутии. *Генетика*. 2017; 6: 705-715.
- Van Camp G., Smith R.J.H. Hereditary Hearing Loss Homepage. <https://hereditaryhearingloss.org>. September 2019.
- Пшениникова В.Г., Терютин Ф.М., Барашков Н.А. и др. Постлингвальная глухота в Эвено-Бытантайском районе Якутии: аудиологический и клинико-генеалогический анализ. *Якутский медицинский журнал*. 2018; 4(64): 47-52.
- Джемилева Л.У., Посух О.Л., Тазетдинов А.М. и др. Анализ генов 12SrRNA и tRNASer(UCN) мтДНК у больных несиндромальной сенсоневральной тугоухостью/глухотой наследственной этиологии из различных регионов России. *Генетика*. 2009; 7: 982-991.
- Barashkov N.A., Dzhemileva L.U., Fedorova S.A. et al. 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; 56(9): 631-639. doi: 10.1038/jhg.2011.72
- Барашков Н.А., Кларов Л.А., Терютин Ф.М. и др. Новая нон-сенс-мутация р.Trp325Ter (с.977G>A) гена *POU3F4* в якутской семье с синдромом Gusher (DFNX2). *Медицинская генетика*. 2015; 8: 25-36.
- Романов Г.П., Барашков Н.А., Терютин Ф.М. и др. Брачная структура, репродуктивные параметры и мутации гена *GJB2* (Cx26) у глухих людей в Якутии. *Генетика*. 2018; 5: 547-555. doi: org/10.1134/S1022795418050071
- Seco C.Z., Oonk A.M., Domínguez-Ruiz M. et al. Progressive hearing loss and vestibular dysfunction caused by a homozygous nonsense mutation in *CLIC5*. *Eur J Hum Genet*. 2015; 23(2): 189-194. doi: 10.1038/ejhg.2014.83
- al-Awqati Q. Chloride channels of intracellular organelles. *Curr Opin Cell Biol*. 1995; 7(4): 504-508.
- Berryman M., Bretscher A. Identification of a novel member of the chloride intracellular channel gene family (*CLIC5*) that associates with the actin cytoskeleton of placental microvilli. *Mol Biol Cell*. 2000; 11(5): 1509-1521.
- Gagnon L.H., Longo-Guess C.M., Berryman M. et al. The chloride intracellular channel protein *CLIC5* is expressed at high levels in hair cell stereocilia and is essential for normal inner ear function. *J Neurosci*. 2006; 26(40): 10188-10198.
- Карпова Г.А. Основы сурдопедагогики: учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений. Екатеринбург: Издатель Калинина Г.П. 2008: 354. -

References

- Del Castillo F.J., Del Castillo I. DFNB1 Non-syndromic Hearing Impairment: Diversity of Mutations and Associated Phenotypes. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10: 428. doi: 10.3389/fnfmol.2017.00428.
- Smith R.J.H., Jones M.K.N. EditorsIn: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *SourceGeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. 1998 Sep 28 [updated 2016 Aug 18].
- Pshennikova V.G., Barashkov N.A., Teryutin F.M. et al. Analiz spektra i chastoty GJB2-mutacij u pacientov s vrozhdennymi narusheniyami sluha v Respublike Saha (Yakutiya) [GJB2 mutation spectrum in patients with congenital hearing loss in Yakutia]. *Meditsinskaya genetika* [Medical Genetics]. 2015; 6(156): 10-23. (In Russ.)
- Barashkov N.A., Pshennikova V.G., Posukh O.L. et al. Spectrum and Frequency of the GJB2 Gene Pathogenic Variants in a Large Cohort of Patients with Hearing Impairment Living in a Subarctic Region of Russia (the Sakha Republic). *PLoS One*. 2016; 11(5): e0156300. doi: 10.1371/journal.pone.0156300.
- Pshennikova V.G., Barashkov N.A., Solovyeva A.V. et al. Analysis of GJB6 (Cx30) and GJB3 (Cx31) Genes in Deaf Patients with Monoallelic Mutations in GJB2 (Cx26) Gene in the Sakha Republic (Yakutia). *Russ J Genet*. 2017; 6: 688-697.
- Van Camp G., Smith R.J.H. Hereditary Hearing Loss Homepage. <https://hereditaryhearingloss.org>. September 2019.
- Pshennikova V.G., Teryutin F.M., Barashkov N.A. et al. Postlingval'naja gluhota v Jeveno-Bytantajskom rajone Jakutii: audiologicheskij i kliniko-genealogicheskij analiz. [Postlingual deafness in Eveno-Bytantaysky National District of the Sakha Republic (Yakutia): audiological and clinical-genealogical analysis] *Jakutskij medicinskij zhurnal* [Yakut Medical Journal]. 2018; 4(64): 47-52. doi: 10.25789/YMJ.2018.64.14. (In Russ.)
- Dzhemileva L.U., Posukh O.L., Tazetdinov A.M. et al. Analiz genov 12SrRNA i tRNASer(UCN) mtDNK u bol'nyh nesindromal'noj sensonevral'noj tugoouhost'ju/gluhotoj nasledstvennoj jetiologii iz razlichnyh regionov Rossii [Analysis of mitochondrial 12S rRNA and

- tRNA(Ser(UCN)) genes in patients with nonsyndromic sensorineural hearing loss from various regions of Russia]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2009; 7: 982-991. (In Russ.)
9. Barashkov N.A., Dzhemileva L.U., Fedorova S.A. et al. 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; 56(9): 631-639. doi: 10.1038/jhg.2011.72.
 10. Barashkov N.A., Klarov L.A., Teryutin F.M. et al. Novaja nonsens-mutacija p.Trp325Ter (c.977G>A) gena POU3F4 v jakutskoj sem'e s sindromom Gusher (DFNX2) [Novel mutation p.Trp325Ter (c.977G>A) in the POU3F4 gene in Yakut family (Eastern Siberia) with perilymphatic Gusher-deafness syndrome (DFNX2)]. *Medit-sinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2015; 8: 25-36. (In Russ.)
 11. Romanov G.P., Barashkov N.A., Teryutin F.M. et al. Marital Structure, Genetic Fitness, and the GJB2 Gene Mutations among Deaf People in Yakutia (Eastern Siberia, Russia). *Russian Journal of Genetics*. 2018; 5: 554-561. doi.org/10.1134/S1022795418050071.
 12. Seco C.Z., Oonk A.M., Domínguez-Ruiz M. et al. Progressive hearing loss and vestibular dysfunction caused by a homozygous nonsense mutation in *CLIC5*. *Eur J Hum Genet.* 2015; 23(2): 189-194. doi: 10.1038/ejhg.2014.83
 13. al-Awqati Q. Chloride channels of intracellular organelles. *Curr Opin Cell Biol.* 1995; 7(4): 504-508.
 14. Berryman M., Bretscher A.. Identification of a novel member of the chloride intracellular channel gene family (*CLIC5*) that associates with the actin cytoskeleton of placental microvilli. *Mol Biol Cell.* 2000; 11(5): 1509-1521.
 15. Gagnon L.H., Longo-Guess C.M., Berryman M. et al. The chloride intracellular channel protein *CLIC5* is expressed at high levels in hair cell stereocilia and is essential for normal inner ear function. *J Neurosci.* 2006; 26(40): 10188-10198.
 16. Karpova G.A.. *Osnovy surdopedagogiki: ucheb. posobie dlya stud. vyssh. ped. ucheb. zavedenij [Fundamentals of audio-pedagogy: Textbook. allowance for stud. supreme. ped. training. Institutions] Izdatel' Kalinina GP [Publisher Kalinina GP]. Ekaterinburg, 2008: 354. (In Russ.)*