

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Н.А. Барашков, Ф.М. Терютин, А.Л. Сухомясова,
Н.Р. Максимова, Л.У. Джемилева, Е.Е. Гуринова,
Э.Е. Федотова, Е.В. Тапыев, Р.Р. Валиев, С.К. Кононова,
С.А. Федорова, Э.К. Хуснутдинова, А.Н. Ноговицына

АНАЛИЗ ЛОКУСА CX26AU ГЕНА GJB2 У БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ И ГЛУХОТой ИЗ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

Цель исследования. Провести поиск мутаций с помощью SSCP-анализа в локусе CX26AU кодирующей части гена GJB2 у больных нейросенсорной тугоухостью и глухотой.

Материалы и методы. Проведено выездное и амбулаторное медико-генетическое консультирование 48 человек из 37 неродственных семей с диагнозом нейросенсорная тугоухость III-IV степени предположительно наследственной этиологии. Поиск возможных мутаций в локусе CX26AU кодирующего региона гена GJB2 проводили с помощью анализа конформационных полиморфизмов одностранных фрагментов ДНК (SSCP-Single Strand Conformation Polymorphism).

Результаты. Согласно полученным данным, изменение подвижности образцов ДНК с различными конформационными полиморфизмами обнаружено: у 11 пациентов с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью (мутация 35delG), у пробанда с синдромом Ваарденбурга и в 1 образце, который был использован в качестве контроля (тип мутации не установлен). Общая частота мутаций на хромосомах больных гена GJB2 (локус CX26AU) составила – 0,244 (24, 4%), что значительно ниже, чем в европейских популяциях.

Заключение. Наиболее распространенной мутацией в локусе CX26AU гена GJB2 у больных нейросенсорной тугоухостью в РС (Я) является мутация 35delG. Причину снижения слуха можно считать установленной у 5 пациентов, на обеих хромосомах которых была выявлена делеция гуанина в 35-м положении. В этих семьях в дальнейшем возможна пренатальная (дородовая) ДНК-диагностика. Учитывая относительно невысокую частоту мутаций в локусе CX26AU на хромосомах больных нейросенсорной тугоухостью в Якутии в сравнении с европейскими регионами, необходимы дальнейшие исследования других локусов генов GJB2 и GJB3 с помощью SSCP-анализа и секвенирования образцов ДНК с найденными изменениями подвижности.

Ключевые слова: SSCP – анализ (Single Strand Conformation Polymorphism), локус CX26AU, мутация 35delG, ген GJB2 или Коннексин 26, нейросенсорная тугоухость/глухота/врожденная глухота, ДНК-диагностика.

Aim. To lead search of mutations by means of the SSCP-analysis in one of coding region of gene GJB2 at patients with sensorineural hearing loss and deafness.

Materials and methods. Exit and out-patient medical-genetic consulting clinic of 48 person from 37 unrelated families with the diagnosis sensorineural hearing loss III-IV of a degree. Search possible mutations in locus CX26AU of coding region gene GJB2 spent by means of the analysis of SSCP-Single Strand Conformation Polymorphism.

Results. According to the received data change of mobility of samples of DNA with various conformation polymorphisms are revealed: at 11 patients with nonsyndromic hearing loss and deafness (a mutation 35delG), at a patient with Waardenburg syndrome and in 1-st sample who has been used as the control (type of a mutation is not established). The general frequency of mutations on chromosomes of patients of gene GJB2 (locus CX26AU) has made – 0,244 (24, 4 %), that considerably below what in the European populations.

Conclusion. Most a major mutation in locus Cx26AU of gene GJB2 at patients with sensorineural hearing loss and deafness in RS (Y) is the mutation 35delG. It is possible to consider the reason of decrease in hearing established at 5 patients on which both chromosomes it has been revealed 35delG. In these families in the future the prenatal DNA-diagnostics is possibly to be held. Considering rather low frequency of mutations in locus CX26AU on chromosomes sick sensorineural hearing loss and deafness in Yakutia in comparison with the European regions the further researches of other loci of genes GJB2 and GJB3 by means of the SSCP-analysis and sequence samples of DNA with the found changes of mobility are necessary.

Key words. SSCP-analyze, mutation 35delG, gene GJB2 or Connexin 26, sensorineural hearing loss /deafness/congenital deafness, DNA-diagnostics

БАРАШКОВ Николай Алексеевич – н.с. ЯНЦ РАМН и Правительства РС(Я); **ТЕРЮТИН Федор Михайлович** – врач-сурдолог РБ №1-НЦМ; **СУХОМЯСОВА Айтилина Лукична** – врач-генетик РБ№1 – НЦМ; **МАКСИМОВА Надежда Романовна** – к.м.н., нач. Отдела ЯНЦ РАМН; **ДЖЕМИЛЕВА Лиля Усеиновна** – к.м.н., н.с. НИИ биохимии и генетики УНЦ РАН; **ГУРИНОВА Елизавета Егоровна** – н.с. ЯНЦ РАМН; **ФЕДОТОВА Эльвира Егоровна** – к.м.н., зав. Сурдологопедическим центром РБ №1-НЦМ; **ТАПЫЕВ Евгений Викторович** – м.н.с. ЯНЦ РАМН; **ВАЛИЕВ Руслан Радисович** – н.с. НИИ БиГ УНЦ РАН; **КОНОНОВА Сардана Кононовна** – к.б.н., с.н.с. ЯНЦ РАМН; **ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна** – к.б.н., зав. лаб. ЯНЦ РАМН; **ХУСНУТДИНОВА Эльза Камилевна** – д.б.н., зав. Отделом геномики НИИ БиГ УНЦ РАН; **НОГОВИЦЫНА Анна Николаевна** – к.м.н., зам. нач. Отдела ЯНЦ РАМН.

Введение

Дефекты органов слуха занимают существенное место среди наследственной патологии. По данным ВОЗ,

за последние 20 лет число людей с различными формами тугоухости увеличилось в 2 раза и составляет 20 млн. чел. Примерно 3% жителей земного

шара страдают снижением слуха в степени, которая мешает их социальному общению [9].

Частота наследственной тугоухости и глухоты составляет 1 на 1000 новорожденных детей [14, 22]. Врожденная глухота и снижение слуха в доречевой период приводит к нарушению речевой и социальной адаптации, поэтому такие дети нуждаются в своевременно начатой коррекции дефектов органов слуха [10].

Примерно половина врожденных форм нарушений слуха имеет наследственную этиологию [15], другая половина может быть связана с «не генетическими» причинами: инфекциями, осложнениями в родах (асфиксии, родовые травмы), приемом матерью ототоксических лекарственных препаратов, длительной искусственной вентилицией легких, бактериальными менингитами, продолжительными отитами, тяжелыми травмами головы и др. [3, 8].

Для наследственных форм потери слуха характерен клинический и генетический полиморфизм [4]. Наследственные нейросенсорные формы тугоухости генетически классифицируются на несиндромальные (изолированные) и синдромальные (при которых поражаются и другие органы и системы). Для несиндромальных форм, которые составляют 70-80% среди всей наследственной патологии слуха, характерны все типы наследования, включая Х-сцепленный и митохондриальный [2, 9, 10]. Причем 80% всей несиндромальной нейросенсорной тугоухости приходится на семьи с аутосомно-рецессивным типом наследования [2, 21].

Генетическая гетерогенность наследственных форм тугоухости обусловлена тем, что в процессе эмбрионального развития кортиева органа принимают участие более 40 генов [17]. На сегодняшний день описано 90 мутаций только в одном из них – гене *GJB2*, локализованном на хромосоме 13q11 [11, 21, 22].

Ген *Коннексин 26* или *GJB2* (от англ. – *gap junction B2*) является наиболее изученным среди всех генов, мутации в котором отвечают за развитие нарушений процесса звуковосприятия. Доказано, что белок, экспрессируемый геном *GJB2*, играет важную роль в обмене ионов калия во внутреннем ухе. При нарушении синтеза этого белка в тканях улитки происходит дисбаланс ионной циркуляции, что влечет за собой изменение процесса звуковосприятия [3, 19].

Было показано, что ген *GJB2* имеет промоторную область, один интрон размером 3150 п.н., один экзон – 1470 п.н., и его структура в значительной степени сходна со структурой генов других коннексинов [23]. Промоторная область гена характеризуется значительной сложностью, свидетельствующей о многоступенчатой регуляции транскрипции. Учитывая также возможность альтернативного сплайсинга мРНК *коннексина 26* [18], не исключается участие данного гена не только в обмене ионами калия клетками, но и в более сложных процессах, таких, например, как дифференцировка клеток, апоптоз и т.д. [4].

Согласно опубликованным данным, мутации в гене *GJB2* отвечают, как минимум, за 20% всех нарушений слуха, диагностируемых у людей, и могут приводить как к рецессивным, так и доминантным формам глухоты. Основными клиническими проявлениями мутаций в гене *GJB2* являются врожденные нарушения слуха и преобладание выраженной степени тугоухости вплоть до глухоты [3, 24].

Одной из самых распространенных мутаций в этом гене является мажорная (частая) для европеоидных популяций мутация *35delG*, при которой происходит выпадение (делеция) одного из шести последовательно расположенных гуанинов в 35-м положении. Эта мутация приводит к образованию стоп-кодона и прекращению синтеза полноценного белка в волосковых клетках внутреннего уха [4, 24]. Частота данной мутации среди всех мутантных аллелей гена *GJB2* варьирует от 55 до 88% [10]. По некоторым литературным данным, каждый 33-й житель Европы является гетерозиготным носителем этой мутации [3, 10, 24].

Мутация *35delG* обуславливает развитие ранней несиндромальной нейросенсорной тугоухости в 20% всех случаев врожденной глухоты в европейских странах [4, 16, 24]. Данный факт служит основой для внедрения молекулярно-генетических методов диагностики нарушений слуха у пациентов тех регионов, в которых основной вклад в данную патологию принадлежит мутации *35delG*. В Эстонии частота гетерозиготного носительства данной мутации составляет 12% [16], в Башкортостане, средней полосе России – 1,4–3% [3, 13].

Однако в РС(Я) остается высоким процент пациентов, причины потери слуха которых по-прежнему, не известны [1]. Для построения оптимального алгоритма ДНК-диагностики наслед-

ственных форм тугоухости/глухоты в Якутии необходим анализ спектра мутаций гена *GJB2* у больных нейросенсорной тугоухостью. Первый этап – поиск возможных дефектов в нуклеотидной последовательности гена *GJB2*. В данной работе нами исследован один из участков кодирующего региона гена *GJB2* с помощью анализа конформационных полиморфизмов однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-Single Strand Conformation Polymorphism).

Материалы и методы

Проведено выездное и амбулаторное медико-генетическое консультирование 48 человек из 37 неродственных семей с диагнозом нейросенсорная тугоухость III-IV степени предположительно наследственной этиологии (из Республиканской специализированной (коррекционной) школы-интерната I типа для глухих детей и из числа амбулаторных больных медико-генетической консультации РБ №1-НЦМ). На каждого пациента составлена генетическая карта, собран генеалогический анамнез. Возраст пробандов варьировал от 6 до 22 лет. В 14 семьях выявлен аутосомно-рецессивный тип, в 3 – аутосомно-доминантный, в 20 семьях тип наследования не установлен. В одном случае выявлен синдром Ваарденбурга. У 32 обследованных имелись больные сибсы. Этническая принадлежность устанавливалась путем опроса обследованных (33 якута из 26 семей, 12 русских из 10 семей, 3 ингуша из 1 семьи).

SSCP-анализ:

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенолхлороформной экстракции [20]. Амплификацию проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на аппарате «Терцик» с использованием праймеров [24]. Поиск возможных мутаций в локусе *CX26AU* кодирующего региона гена *GJB2* проводили с помощью анализа конформационных полиморфизмов однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-Single Strand Conformation Polymorphism). Этот метод позволяет выявлять точечные замены во фрагментах ДНК небольшого размера (оптимум – 200-300 п.н.). Перед внесением в гель пробы подвергали щелочной и термической денатурации. Разделение цепей проводили в нескольких различающихся условиях.

Результаты амплификации оценивали в 10% полиакриламидном геле (АА: бисАА= 29:1,3) с 5% глицерином, длиной 20 см. В качестве буфера для электрофореза использовали 1хTBE.

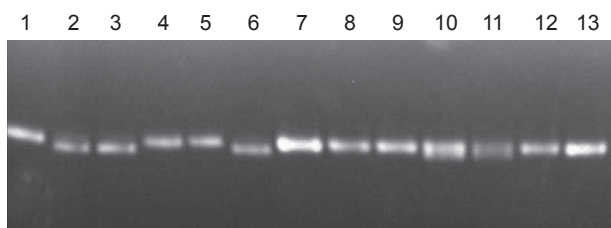


Рис.1. Идентификация мутации *35delG* в 10% полиакриламидном геле: 1,4,5,7,8, 9,12,13 – *normal/normal*; 2,3,6 – *35delG/35delG*; 10,11 – *35delG/normal*

Электрофорез проводили в течение 24 часов при 100В. В качестве маркера молекулярного веса использовали ДНК фага λ рUC 19/Msp1. После разделения продуктов ПЦР гель окрашивали нитратом серебра.

Пробы с различными конформационными полиморфизмами были протестированы на наличие мутации *35delG* с помощью прямого ПЦР-анализа с использованием праймеров [10].

Частоту мутаций в локусе *CX26AU* на хромосомах больных высчитывали, деля число образцов ДНК с измененной подвижностью на общее число образцов ДНК. Частота аллелей с мутацией *35delG* высчитывалась по формуле: $p = n/N$, где n – число хромосом с мутацией *35delG*, N – общее число исследованных хромосом в выборке больных.

Результаты и обсуждение

Впервые в РС(Я) был применен метод конформационного полиморфизма одонитевых фрагментов ДНК (SSCP-Single Strand Conformation Polymorphism) на пробах больных нейросенсорной тугоухостью и глухотой. С применением этого метода стало возможным проведение молекулярно – генетического скрининга всего гена *GJB2*. Для этого кодирующая часть гена была поделена нами на 4 участка оптимальных для поиска нуклеотидных замен (300–400 п.н. – каждый). В статье представлены первые опытные данные по поиску мутаций у больных нейросенсорной тугоухостью и глухотой из Республики Саха (Якутия) в одном из этих участков – локусе *CX26AU*.

Согласно полученным данным, изменение подвижности образцов ДНК с различными конформационными полиморфизмами обнаружено: у 11 пациентов с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью, у 1 пробанда с синдромом Ваарденбурга и в 1 образце, использованном в качестве контроля. Частота мутаций на хромосомах больных гена *GJB2* (локус *CX26AU*) составила – 0,244 (24, 4%).

По полученным данным, 5 человек оказались гомозиготами и 6 – гетерозиготными носителями, т.е. у 11 человек была обнаружена делеция гуанина в 35-м положении (рис.1). Учитывая соотношение числа гомо- и гетерозиготных носителей мутации, мы провели оценку

частоты мутации *35delG*, которая составила 0,166 (16,6%) в исследованной выборке больных.

Полученный результат согласуется со многими литературными данными о высокой распространенности этой мутации в различных популяциях человека [3, 4, 13]. У 5 пациентов, на обеих хромосомах которых была выявлена мутация *35delG*, причину снижения слуха можно считать установленной. Это немаловажно для дифференциальной диагностики, при установлении наследственной этиологии заболевания и последующего проспективного медико-генетического консультирования. В этих семьях в дальнейшем возможна пренатальная (дородовая) ДНК-диагностика.

Мутация *35delG* выявлена у 6 обследуемых в гетерозиготном состоянии. Обнаруженная мутация *35delG* только в одной копии гена не раскрывает причины развития тугоухости у данных пациентов, т.к. мутантный аллель рецессивен по отношению к аллели дикого типа. Такое количество гетерозиготных носителей делеции *35delG* и наличие у них потери слуха может указывать на сегрегацию различных по происхождению мутантных аллелей у исследованных нами больных, что, вероятно, является действием направленного отбора, т.е. ассортативности браков между индивидами с нарушением слуха. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования не только среди больных, но и среди здорового населения для оценки частоты гетерозиготного носительства в популяциях РС(Я).

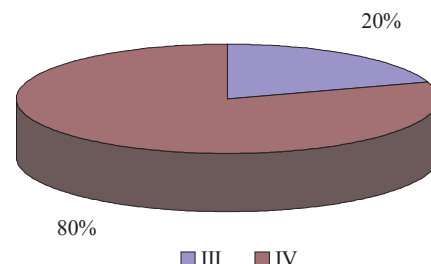


Рис.2. Распределение пациентов (%) с мутацией *35delG* в гомозиготном состоянии по степени тугоухости

Степень тугоухости пациентов с генотипом *35delG/35delG* составила 80% IV, и 20% III степени, что подтверждает многие исследования о практически полной глухоте у носителей данной мутации в гомозиготном состоянии [3, 4] (рис.2).

У двоих sibсов из одной семьи с мутацией *35delG* в гомозиготном состоянии наблюдалась ложная картина аутосомно-доминантного типа наследования. По-видимому, родители пробандов являются носителями той же мутации в гомо – и в гетерозиготном состоянии. Накопление мутаций и подобная картина ложного типа наследования могут свидетельствовать также об ассортативности браков между слабослышащими.

В зависимости от этнической принадлежности носителями мутации *35delG* оказались следующие представители, как европеоидов, так и монголоидов (таблица).

У одного обследованного пробанда с синдромом Ваарденбурга был выявлен конформационный полиморфизм одонитевых фрагментов ДНК, что может указывать на наличие мутации в гомо/гетерозиготном состоянии или полиморфизма. По оценкам разных авторов, синдром Ваарденбурга является причиной 2-5% врожденной тугоухости у детей [7]. В то время как общепопуляционная частота данного синдрома составляет 1 случай на 4000 новорожденных. В 1959 г. L. Fish с соавторами показал, что нарушение слуха при синдроме Ваарденбурга может

Встречаемость мутации *35delG* у больных нейросенсорной тугоухостью и глухотой в зависимости от этнической принадлежности

Национальность	Генотип <i>35delG/35delG</i> (кол-во чел.)	Генотип <i>35delG/normal</i> (кол-во чел.)
Русский	2	5
Якут	0	1
Ингуш	3	0

Примечание. Генотип *35delG/35delG* – гомозигота по мутации. Генотип *35delG/normal* – гетерозиготные носители мутации.



Рис. 3. Типичный фенотип больного с синдромом Ваарденбурга [6]

быть связано с гипоплазией кортиева органа. Он также сделал предположение, что все признаки синдрома имеют общую причину – ошибку в развитии нервного гребня – эмбриональной структуры, которая является источником формирования слухового пузырька и пигментации кожных покровов. В 1989 г. Steel констатировала отсутствие меланоцитов в сосудистой полоске улитки млекопитающих, страдающих глухотой и нарушением пигментации [7].

Типичные проявления синдрома Ваарденбурга: частичный альбинизм, белая прядь волос, телекант, широкая выступающая переносица, сросшиеся брови, гетерохромия радужки, пятна пигментации на коже (рис. 3). Вследствие гипоплазии кортиева органа развивается нейросенсорная глухота или тяжелая тугоухость. Наследуется синдром Ваарденбурга по аутосомно-доминантному типу с неполной пенетрантностью, т.е. не все перечисленные признаки могут иметь место у одного больного. В настоящее время в литературе описаны случаи адаптофенотипа синдрома Ваарденбурга, когда имеются малые аномалии, но снижения слуха не наблюдается.

В начале 90-х гг. благодаря ряду независимых проводимых исследований стало ясно, что причиной синдрома является нарушение в структуре гена *PAX3*. Ген расположен на длинном плече 2-й хромосомы [7]. Этот ген кодирует белок, который содержит три специфичных области (домены), способные связывать ДНК. Это спаренный домен, гомеодомен и гомеобокс. Наличие этих доменов указывает на то, что продукт гена *PAX3* – это не что иное как транскрипционный фактор, который регулирует работу других генов на ранних стадиях эмбрионального развития. Показано что ген *PAX3* контролирует процессы миграции из нервного гребня и дальнейшей дифференцировки предшественников пигментных и нервных клеток [7].

Возможно, найденное изменение электрофоретической подвижности

при конформационном анализе однонитевых фрагментов ДНК, в локусе *CX26AU* у пациента с синдромом Ваарденбурга (рис. 4) свидетельствует о потенциальном наличии мутации в гене *GJB2* в компаунде с мутацией в гене *PAX3* или *MITF*, нуклеотидные замены, в которых приводят к клиническому проявлению, описанному в литературе как синдром Ваарденбурга (I и II типа соответственно). Это еще раз подтверждает предположение о выраженной гетерогенности у больных нейросенсорной тугоухостью в РС(Я). Вероятно, это объясняется высокой ассортативностью браков между индивидами с нарушенным процессом звуковосприятия. Многие люди со сниженным слухом социально не мобильны, или просто дезадаптированы в обществе. На сегодняшний день показана низкая (горизонтальная и ниспадающая) социальная мобильность населения РС(Я) [5]. Люди со сниженным слухом еще в меньшей степени адаптированы к современным условиям жизни. Как правило, они так или иначе изолированы от общества социальными институтами и создают семьи внутри ограниченного круга лиц из своей среды (школа, интернат и др.), что способствует распространению и накоплению различных по происхождению мутантных аллелей среди слабослышащих и глухих. В этом заключается сложность ДНК-диагностики, т.к. генетическая гетерогенность наследственных форм тугоухости не позволяет тестировать на сегодняшний день все различные по происхождению и локализации мутации в генах, ответственных за развитие слуха, которых может быть очень много. В связи с этим для построения оптимального алгоритма ДНК-диагностики необходимо выявить спектр мажорных мутаций в коренных популяциях РС(Я).

В одном образце, использованном в качестве контроля, также было выявлено изменение электрофоретической подвижности однонитевых фрагментов ДНК (рис. 5), свиде-

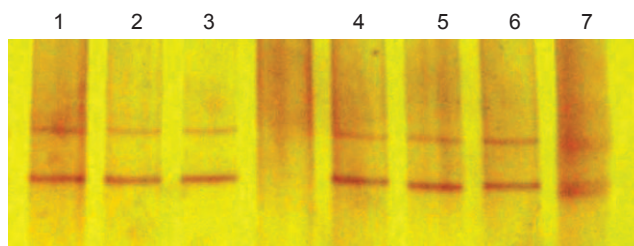


Рис. 4. Электрофореграмма SSCP-анализа локуса *CX26AU* гена *GJB2*. 1–6-я пробы – с нормальной подвижностью, 7-я – с измененной конформационной подвижностью

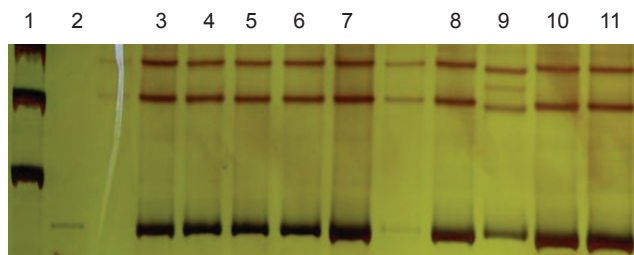


Рис. 5. Электрофореграмма SSCP-анализа локуса *CX26AU* гена *GJB2*. 1 – маркер *Msp1/Puc19*; 2 – неденатурированный контроль; 3–8, 10, 11 – пробы с нормальной подвижностью; 9 – проба с измененной конформационной подвижностью

тельствующее о наличии изменений в нуклеотидной последовательности данного региона гена *GJB2*. Вероятно, мы обнаружили гетерозиготного носителя, какой-либо патологической мутации или нейтрального полиморфизма среди популяционной выборки здоровых якутов. Такая «случайность» могла произойти по нескольким причинам.

Одна из возможных причин – когда имеется какая-либо мажорная мутация в гене *GJB2* в популяции якутов с высокой частотой гетерозиготного носительства. На сегодняшний день к известным распространенным мутациям в различных популяциях человека относятся: *35delG*, *167delT*, *235delC* и др. Делеция гуанина в 35-м положении – *35delG* была выявлена только у 1 пациента якутской национальности (таблица) с нейросенсорной тугоухостью что, по-видимому, связано с низким уровнем распространенности данной мутации в популяции якутов [1]. Это в свою очередь согласуется с данными по этноспецифичности накопления мутаций в гене *GJB2*, т.к. мутация *35delG* более характерна для европеоидов [4, 16]. По данным анализа митохондриальной ДНК, содержание европеоидного компонента в генофонде якутов невысокое (8,4%) [12], и соответственно частота мутации *35delG* может быть крайне низкой. Вероятнее, что для якутов, как и для остальных монголоидов, более характерна делеция цитозина в 235-м положении, которая была обнаружена у больных и

здоровых: японцев, китайцев, корейцев, монголов. На сегодняшний день на территории РФ мутация *235delC* была найдена у больных нейросенсорной тугоухостью алтайцев и татар [4, 11]. Возможно, что для якутов характерна другая, не описанная ранее как мажорная, или неизвестная мутация в гене *GJB2*.

Нельзя исключать возможности того, что обнаруженный конформационный полиморфизм является следствием редкого мутационного события, не свойственного для большинства больных нейросенсорной тугоухостью якутов и не обладающего высокой частотой распространенности в коренных популяциях РС(Я). Наряду с этим также вероятно, что найденный конформационный полиморфизм одонитных фрагментов ДНК не имеет отношение к дефекту гена, т.е. не приводит к изменению экспрессии белка Коннексина 26 и не влияет на его функциональную способность, являясь нейтральным полиморфизмом.

Выводы.

1. Наиболее распространенной мутацией в локусе *CX26AU* гена *GJB2* на хромосомах больных нейросенсорной тугоухостью и глухотой в РС(Я) является мутация *35delG*. Причину потери слуха можно считать установленной у 5 пациентов, на обеих хромосомах которых была выявлена мутация – делеция гуанина в 35-м положении. В этих семьях в дальнейшем возможна пренатальная (дородовая) ДНК-диагностика.

2. В гетерозиготном состоянии мутация *35delG* была найдена у 6 пациентов. Необходим дальнейший анализ этих образцов ДНК, а также исследование спектра и частоты различных изменений нуклеотидной последовательности не только среди больных, но и среди здорового населения для оценки гетерозиготного носительства мутаций гена *GJB2*, являющихся причиной потери слуха, в популяциях РС(Я).

3. Учитывая относительно невысокую частоту мутаций в локусе *CX26AU*, а также для подтверждения одного из перечисленных предположений, касающихся обнаруженной измененной подвижности образца ДНК у одного индивида из популяционной выборки здоровых якутов и установления при-

чин потери слуха у пробанда с синдромом Ваарденбурга, необходимы дальнейшие исследования других регионов генов *GJB2* и *GJB3* с помощью SSCP-анализа и секвенирования образцов ДНК с найденными изменениями подвижности.

4. Также данный вопрос требует дальнейшего изучения и в аспекте археологической и этнической геномики, т.к. этноспецифичность накопления мутаций в гене *GJB2* может использоваться в качестве весомых аргументов для доказательства различных сценариев миграции и происхождения народов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РС(Я) в области здравоохранения и медицинской науки № 327 РП.

Литература

1. Барашков Н.А., Кононова С.К., Федорова С.А. и др. Апробация методов ДНК-диагностики при наследственной тугоухости в Республике Саха (Якутия) // Материалы междунар. научно-практ. конф. «Генетические аспекты патологии человека. Проблемы сохранения генофонда коренных народов Севера». – Якутск, 2005. – С.11-13.
2. Блюмина М.Г. Медико-генетическое консультирование семей с нейросенсорной тугоухостью неясной этиологии у обоих супругов // Вестник оторинолар. – 1987-№4.-С.33-35.
3. Джемилева Л.У. Анализ генов *GJB2* и *GJB3* у больных несиндромальной наследственной глухотой и в некоторых популяциях Волго-Уральского региона: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Уфа, 2002. – 20 с.
4. ДНК-диагностика и профилактика наследственной патологии в Республике Башкортостан / Под ред. Э.К. Хуснутдиновой. – Уфа: Китап, 2005. – 204 с.
5. Ефимова А.Б. Особенности социальной мобильности населения северных регионов в современных условиях (на материалах Республики Саха (Якутия)): Автореф. дис. канд. соц. наук. – Улан-Удэ, 2005. – 25 с.
6. Козлова С.И., Демикова Н.С. и др. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. – М.: Практика, 1996.
7. Маркова Т.Г., Мегрелешвили С.М., Зайцева Н.Г., Ланцов А.А. Клиническое и молекулярно-генетическое исследование синдрома Ваарденбурга // Вестник оторинолар. – 2003. – №1. – С.17-19.
8. Маркова Т.Г. Наследственные формы тугоухости и медико-генетическое консультирование // Медицинская генетика. – 2004. – Т.3, №2. – С.50-69.

9. Наследственные болезни в популяциях человека / Под ред. Е.К. Гинтера. – М.: Медицина, 2002. – 268 с.

10. Некрасова Н.Ю., Шагина И.А., Петрин А.Н., Поляков А.В. Частота мутации *35delG* в гене коннексина 26 у детей, страдающих ранней детской нейросенсорной тугоухостью // Медицинская генетика. – 2002. – Т.1, №6. – С.290-294.

11. Посух О.Л., Палларес-Руиз Н., Тадинова В.Н. и др. Распространенность мутаций гена *GJB2*, определяющих нарушение слуха, в популяциях Республики Алтай // Там же. – Т.2, №10. – С.437.

12. Федорова С.А., Бермишева М.А., Виллемс Р., Максимова Н.Р., Хуснутдинова Э.К. Анализ линий митохондриальной ДНК в популяции якутов // Молекулярная биология. – 2003. – 37. – С. 643-653.

13. Anichkina, Kulenich, Zinchenko et.al. On the origin and frequency of the *35delG* allele in *GJB2*-linked deafness in Europe // Eur.J. of Human Genetics. – 2001. – Vol.9. – P.151.

14. Friedman R.A., Bykhovskaya Y., Sue C.M. et. al. Maternally inherited nonsyndromic hearing loss // Am. J. Med. Genet. – 1999. – V.84(4). – P.369-372.

15. Jacobson J.T. Nosology of deafness // Am. Acad. Audiol. – 1995. – V.6. – P.15-37.

16. Gasparini P., Rabionet R., Barbuji 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. – V.8(1). – P.19-23.

17. Kelley P.M., Harris D.J., Comer B.C. et. al. Novel mutations in the connexin 26 gene (*GJB2*) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss // Am.J. Hum.Genet. – 1998. – V.62. – P.792-799.

18. Kiang D., Jin N., Lin H. Upstream genomic sequence of the human connexin 26 gene // Gene. – 1997. – V.199. – P.165-171.

19. Kikuchi T., Kurima R.S., Paul D.L. et.al. Gap junction in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis // Anat Embriol (Berl). – 1995. – V.191. – P.101-118.

20. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. // Methods in Molecular Biology / Ed. Walker J.M. – 1984. – V.2. – P.31-34.

21. Murgia A., Orzan E., Polli R. et.al. Cx26 deafness: mutation analyses and clinical variability // J.Med. Genet. – 1999. – V.36. – P.829-832.

22. Najmabadi H., Cucci R., Sahebjam S. *GJB2* mutations in Iranians with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss // Hum. Mut. – 2002. – V.504. – P.135-138.

23. Tu Z., Kiang D. Mapping and characterization of the basal promoter of the human connexin 26 gene // BBA. – 1998. – V.1443. – P.169-181.

24. 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. – V.6. – P.1605-1609.