

В.Г. Пшенникова, Ф.М. Терютин, А.М. Чердонова,
Т.В. Борисова, С.А. Федорова, Н.А. Барашков

АНАЛИЗ ВАРИАНТА C.757A>G P.(ILE253VAL) ГЕНА *SLC26A4* У *GJB2*-НЕГАТИВНЫХ ПА- ЦИЕНТОВ С ПОТЕРЕЙ СЛУХА В ЯКУТИИ

DOI 10.25789/YMJ.2023.83.20

УДК 575.224.22

В работе проведен поиск варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* у *GJB2*-негативных пациентов с потерей слуха и в контрольной группе слышащих индивидов в Якутии. В результате среди пациентов вариант был обнаружен с частотой 2,02%, в контрольной группе - 1,94%. Для интерпретации клинической значимости варианта был проведен анализ частоты встречаемости варианта и *in silico* оценка, результаты которых свидетельствуют в пользу вероятной доброкачественности варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4*, поскольку на это указывают высокая частота встречаемости в популяционных выборках и то, что данная миссенс-замена теоретически не нарушает структурной стабильности белка пендрина (*SLC26A4*).

Ключевые слова: вариант с.757A>G p.(Ile253Val), ген *SLC26A4*, пендрин (*SLC26A4*), сенсоневральная потеря слуха.

In this work, we searched for the missense variant c.757A>G p.(Ile253Val) of the *SLC26A4* gene in *GJB2*-negative patients with hearing loss (n=201) and in the control group of hearing individuals (n=103) in Yakutia. As a result, this variant was detected with a frequency of 2.02% among patients, in the control group - 1.94%. To interpretation the clinical significance, a frequency analysis of this variant and *in silico* evaluation were performed, the results of which are in favor of the likely benign of the c.757A>G p.(Ile253Val) variant of the *SLC26A4* gene, as indicated by the high frequency of occurrence in population samples, and the fact that this missense substitution theoretically does not violate the structural stability of the pendrin protein (*SLC26A4*).

Keywords: variant c.757A>G p.(Ile253Val), *SLC26A4* gene, pendrin (*SLC26A4*), sensorineural hearing loss.

Введение. Нарушения слуха являются одной из наиболее распространенных врожденных патологий. Распространенность врожденной и детской тугоухости и глухоты в мире оценивается как 1,33 на 1000 новорожденных [19]. Известно, что до 50% случаев врожденной глухоты имеет наследственную этиологию [6, 19]. Считается, что около 70% генетических причин потери слуха являются несиндромальными, оставшиеся 30% - синдромальными. При этом примерно 75% всех случаев несиндромальной тугоухости и глухоты приходится на аутосомно-рецессивные формы [6, 19].

Вклад гена *SLC26A4* в этиологию аутосомно-рецессивных форм потери

слуха считается одним из наиболее весомых, а доля его патогенных вариантов среди всех идентифицированных каузативных вариантов других генов в ряде регионов мира находится на втором месте после гена *GJB2* [5, 7, 9, 10, 16, 31], а в некоторых и на первом месте (Пакистан) [12]. Патогенные варианты гена *SLC26A4* ассоциированы как с аутосомно-рецессивной глухотой 4 типа (DFNB4, OMIM #600791), так и с синдромом Пендреда (PS, OMIM #274600). Ген *SLC26A4* расположен на 7-й хромосоме в локусе 7q22-q31, содержит 21 экзон и кодирует трансмембранный белок, известный как пендрин (PDS), который экспрессируется во внутреннем ухе, щитовидной железе, почках и эпителии дыхательных путей [21-24, 28, 30]. Пендрин состоит из 780 аминокислот, образующих 12-14 ТМ-сегментов, включая сегмент внутриклеточного функционального домена STAS (антагонист сульфатного переносчика и анти-сигма-фактора) [15, 29].

Ранее в Якутии с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру кодирующей области гена *SLC26A4* был проведен анализ его мутационного вклада среди 6 пациентов с нарушениями слуха и аномалиями внутреннего уха (IP-1, IP-2 и EVA) [1]. В гене *SLC26A4* было идентифицировано пять вариантов: с.85G>C p.(Glu29Gln), с.757A>G p.(Ile253Val), с.2027T>A p.(Leu676Gln), с.2089+1G>A (IVS18+1G>A) и

с.441G>A p.(Met147Ile). Патогенные биаллельные варианты гена *SLC26A4* были выявлены у 4 пациентов (4/6), а моноаллельные варианты *SLC26A4* - у 2 пациентов (2/6). Следует отметить, что все моноаллельные пациенты были якуты и несли один и тот же гетерозиготный вариант гена *SLC26A4* - с.757A>G p.(Ile253Val) [1]. В базе данных ClinVar данный вариант не представлен (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs773657545/#publications>). Однако в базе данных Deafness variation database (DVD) вариант с.757A>G p.(Ile253Val) классифицирован как вероятно патогенный (likely pathogenic), а его аллельная частота, по данным gnomAD, является очень редкой и составляет всего 0,008754% (https://gnomad.broadinstitute.org/variant/7-107315546-A-G?dataset=gnomad_r2_1).

Поскольку второго мутантного аллеля у двух пациентов с гетерозиготным вариантом с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* не было обнаружено, у данных пациентов был проведен мутационный поиск в генах, связанных с гипотезой дигенного наследования в генах *FOXI1* и *KCNJ10*, который также не выявил каузативных вариантов в этих генах [1]. В связи с «отсутствующей» наследуемостью у сингл-гетерозиготных пациентов с с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* для оценки его патогенетической роли актуальным является поиск данного варианта в расширен-

ЯНЦ КМП, Якутск: ПШЕННИКОВА Вера Геннадиевна – к.б.н., в.н.с., psennikovave-ra@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6866-9462, ТЕРЮТИН Федор Михайлович – к.м.н., н.с., rest26@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8659-0886, БАРАШКОВ Николай Алексеевич – к.б.н., в.н.с.-руковод. лаб., barashkov2004@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6984-7934.

СВФУ им. М.К. Аммосова, Якутск: ЧЕРДОНОВА Александра Матвеевна – м.н.с., cherdon60@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4168-9516, БОРИСОВА Туяра Валерьевна – м.н.с., borisovav96@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5019-067X, ФЕДОРОВА Сарда-на Аркадьевна – д.б.н., зав. науч.-иссл. лаб., sardaanafedorova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6952-3868.

ных когортах пациентов с нарушениями слуха и в контрольных группах слышащих индивидов.

В связи с этим целью настоящей работы являлся анализ частоты встречаемости варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* среди *GJB2*-негативных пациентов с потерей слуха, в сравнении с контрольной группой слышащих индивидов в Якутии.

Материалы и методы. Выборку исследования составили образцы геномной ДНК 201 пациента (из них 198 неродственных) с глухотой и/или тугоухостью из Якутии, у которых ранее в результате анализа нуклеотидных изменений гена *GJB2* патогенных вариантов в биаллельном состоянии, обуславливающих аутосомно-рецессивную глухоту 1А типа (DFNB1A, OMIM 220290), не было обнаружено (*GJB2*-негативные) [25]. Среди пациентов мужчины составили 42,3% (n=85), женщины – 57,7% (n=116), средний возраст 26,63±17,51 года. Этнический состав: якуты – 58,7% (n=118), русские – 21,9 (n=44), представители других национальностей – 5,5 (n=1) и потомки от межэтнических браков (метисы) – 13,9% (n=28). Аудиологическое исследование состояния слуха проведено с помощью импедансометрии («AA222» Interacoustics, Denmark) и тональной аудиометрии («GSI61», Grason Stadler inc., USA). 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 - 41-55 дБ, III - 56-70 дБ, IV степень - 71-90 дБ, глухота >90 дБ.

В контрольной группе исследуемых поиск анализируемого варианта был проведен у 103 индивидов с нормальным слухом из популяционной выборки якутов, проживающих в разных районах республики. Состояние слуха было оценено с помощью клинико-аудиологического обследования, включающего пороговую тональную аудиометрию.

Образцы геномной ДНК были выделены методом фенольно-хлороформной экстракции. Поиск варианта с.757A>G p.(Ile253Val) локализованного в 6-м экзоне гена *SLC26A4* был проведен с помощью ПЦР-ПДРФ анализа. Для амплификации фрагмента длиной 251 п.н. были использованы праймеры (F) 5'-CAGAGAG-TAGGTTTCTATCTCAGGC-3' и (R) 5'-CCCTGGAGCAAGAAGCAACA-3'. Для ПДРФ-анализа использована эндонуклеаза рестрикции *HpaI* (сайт ре-

стрикции GTT↑AAC/CAA↓TTG). Анализ ПДРФ проводили методом электрофореза в 4%-ном агарозном геле, с регистрацией в гель-документирующей системе Molecular Imager Gel Doc XR Sistem («Bio-Rad», США). В работе были использованы референсные последовательности: Gene ID: 5172 (*SLC26A4* - solute carrier family 26 member 4 [Homo sapiens (human)]): NM_000441.2, NP_000432.1, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5172>); Ensembl ID: ENSG00000091137, ENSP00000494017, ENST00000644269 (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000091137-SLC26A4>).

Для поиска генетической информации (о клинической значимости и фенотипической взаимосвязи вариантов, распространенности, публикаций, *in silico* оценки прогностических программ для классификации вариантов) использованы следующие базы данных: OMIM® (<https://www.omim.org/>), ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), Deafness variation database (DVD, <https://deafnessvariationdatabase.org/>).

Схема AlphaFold. AlphaFold - первый вычислительный метод, который может предсказывать структуры белка с атомарной точностью даже в тех случаях, когда подобная структура неизвестна [14]. AlphaFold производит метрику достоверности для аминокислотных остатков, по тесту прогнозирования локальной разницы расстояний (pLDDT, predicted local distance

difference test) по шкале от 0 до 100 [14]. Значение pLDDT>90 принимается за предел высокой точности (синий), pLDDT>70 соответствует в целом правильному прогнозу (бирюзовый), pLDDT≥70 - результат охвата последовательностей без хорошего шаблона в PDB (желтый) и pLDDT<50 - низкая степень достоверности (оранжевый) [13]. Полная информация доступна по URL: <https://www.ebi.ac.uk/about>.

Программа PyMol. PyMol (PyMOL Molecular Graphics System) - графическая программа, которая предоставляет 3D-визуализацию белков, небольших молекул, молекулярных поверхностей и траекторий. Полная информация доступна по URL: <https://pymol.org/2/#products>.

Классификация клинической значимости варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* была проведена по стандартам американского колледжа медицинской генетики и геномики (ACMG, American College of Medical Genetics and Genomics) и ассоциации молекулярной патологии (AMP, Association for Molecular Pathology) [26] с поправкой на генетическую тугоухость [8].

Обследования, предусмотренные рамками данной работы, проводились после информированного письменного согласия участников. Работа одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП в 2019 г. (г. Якутск, протокол №7 от 27 августа 2019 г.).

Таблица 1

Аллельная частота с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* у пациентов с тугоухостью/глухотой в сравнении с популяционными выборками

Страна (Регион)	Выборка пациентов*	АЧ	Популяционная выборка**	АЧ	Литература
Россия (Якутия)	8/198	2,02% (8/396)	4/103	1,94% (4/206)	Данная работа
Китай	1/284	0,17% (1/568)	-	-	[4]
Китай	1/2352	0,02% (1/4704)	-	-	[18]
Китай (Тибет)	1/114	0,43% (1/228)	4/106	1,88% (4/212)	[3]
Китай	1/227	0,22% (1/457)	0/200	0% (400)	[20]
Китай	1/371	0,13% (1/742)	-	-	[11]
Всего	13/3546	0,18% (13/7092)	8/409	0,97% (8/818)	-
χ^2	0,18% (13 из 7095)		0,97% (8 из 818)		$\chi^2 = 17,49$, $p < 0,001$

Примечание. * - количество пациентов с с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* на общее количество пациентов с тугоухостью/глухотой, ** - количество индивидов с с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* на общее количество индивидов из популяционных выборок. АЧ – аллельная частота; «-» - данные отсутствуют.

Таблица 2

Клиническая характеристика пациентов с вариантом с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4*

Страна (Регион)	<i>SLC26A4</i> -генотипы пациентов с с.757A>G p.(Ile253Val)	EVA/другие аномалии	Слух	Оценка	Литература
Китай	с.[757A>G];[wt]	-	Глухота	VUS	[4]
Китай	с.[757A>G];[wt]	-	-	-	[18]
Китай (Тибет)	с.[757A>G];[wt]	Норма/ гипоплазия улитки и полукружных каналов	Глухота	Доброкачественный	[3]
Китай	с.[757A>G];[wt]	EVA	Глухота	Доброкачественный	[20]
Китай	с.[919-2A>G];[757A>G]	Норма	Норма	VUS	[11]
Россия (Якутия)	с.[757A>G];[wt] с.[757A>G];[wt]	EVA+IP-1 IP-1/IP-2	Глухота Глухота	Вероятно патогенный	[1]

Примечание. «-» - данные отсутствуют; EVA – расширение водопровода преддверья; IP-1 – неполное разделение улитки тип 1; IP-2 – неполное разделение улитки тип 2; VUS – вариант неопределенного значения.

Результаты и обсуждение. Поиск с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* в выборке *GJB2*-негативных пациентов (n=201) с нарушениями слуха в Якутии выявил данный вариант в гетерозиготном состоянии у 8 пациентов якутов. Ни у одного пациента данный вариант не выявлен в гомозиготном состоянии. В контрольной группе слышащих индивидов из популяционной выборки якутов (n=103) данный вариант был обнаружен у 4 индивидов также в гетерозиготном состоянии. Таким образом, аллельная частота варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* была практически одинакова в обеих группах исследования, среди неродственных пациентов она составила 2,02% (8/396), а в контрольной группе - 1,94% (4/206) (табл. 1). Для сравнительного анализа аллельной частоты с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* нами проведен анализ литературы, где были описаны случаи обнаружения данного варианта. В результате анализируемый нами вариант ранее был идентифицирован только в единичных случаях среди пациентов с нарушениями слуха в Китае [3, 4, 11, 18, 20]. В целом аллельная частота с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* у пациентов с тугоухостью/глухотой в изученных регионах мира составила 0,18% (13/7095). Однако при сравнительном анализе выявленной общей частоты встречаемости варианта среди глухого населения, в сравнении с частотой в популяционных выборках оказалось, что вариант с.757A>G встречался в 5 раз чаще в популяционных выборках (0,97%), чем у лиц с нарушениями слуха (0,18%) ($\chi^2 = 17,49$, $p < 0,001$) (табл. 1).

При анализе клинической характеристики семи пациентов с вариантом

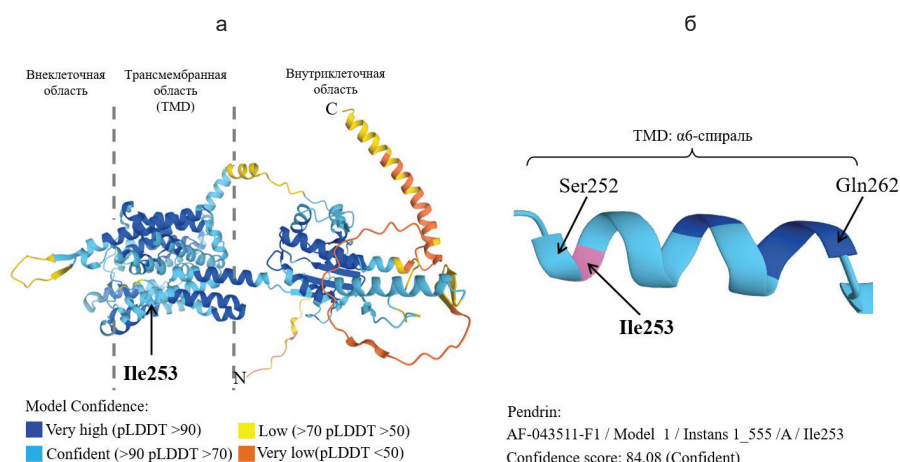


Рис. 1. Трехмерная пространственная структура пендрина *SLC26A4* человека, предсказанная AlphaFold 2.0: а - общий вид (<https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/O43511>), цветом выделены участки мономера с различной достоверностью предсказания конформации (см. снизу), пунктирные линии указывают на вне- и внутриклеточные участки белка, стрелкой указан анализируемый аминокислотный остаток Ile253 в полипептидной цепи пендрина; б - крупный план расположения Ile253 в α -спирали (6-й сегмент) трансмембранного домена (TMD) пендрина, состоящей из 10 аминокислотных остатков (с Ser252 по Gln262)

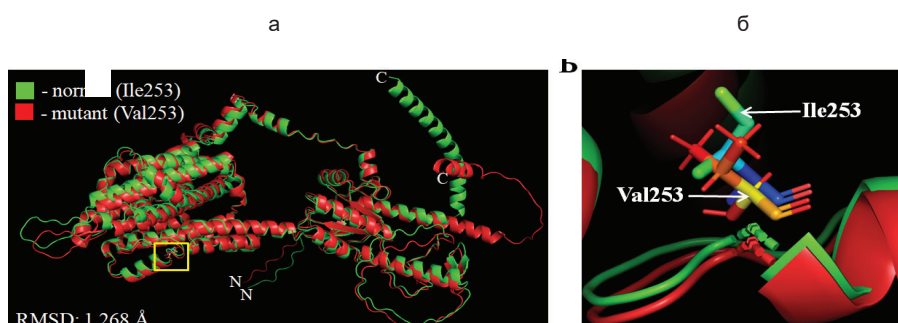


Рис. 2. Трехмерная пространственная структура пендрина *SLC26A4* человека, предсказанная AlphaFold 2.0: а - общий вид (<https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/O43511>), цветом выделены участки мономера с различной достоверностью предсказания конформации (см. снизу), пунктирные линии указывают на вне- и внутриклеточные участки белка, стрелкой указан анализируемый аминокислотный остаток Ile253 в полипептидной цепи пендрина; б - крупный план расположения Ile253 в α -спирали (6-й сегмент) трансмембранного домена (TMD) пендрина, состоящей из 10 аминокислотных остатков (с Ser252 по Gln262)

Таблица 2

Классификация клинической значимости миссенс варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* по рекомендации ACMG

Категория по ACMG				
Патогенный (P, LP)			Доброкачественный (B, LB)	
1	По распространенности			
	Критерии патогенности	Признаки	Критерии доброкачественности	Признаки
	Сильная (Strong): Very Strong – PVS(1) Strong – PS(1-4)	-	Сильная (Strong): stand-alone – BA(1) Strong – BS(1-4)	-
	Средней тяжести: Moderate – PM(1-4)	PM2_Вспомогательный: – низкая минорная аллельная частота (MAF) в популяционных базах данных (<0,0007 [0,07%] для аутосомно-рецессивной потери слуха [8])		
	Вспомогательная: Supporting - PP(1-5)	-	Вспомогательная: Supporting - BP(1-6)	-
2	Функциональные данные			
	Сильная (Strong): very strong – PVS(1) strong – PS(1-4)	-	Сильная (Strong): Stand-alone – BA(1) strong – BS(1-4)	-
	Средней тяжести: moderate – PM(1-4)	-		
	Вспомогательная: Supporting - PP(1-5)	PP2: Миссенс вариант в гене, который имеет низкий уровень доброкачественных миссенс изменений и в базе ClinVar: из 389 миссенс изменений, P/LP/VUS-варианты составляют 94% (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=SLC26A4%5Bgene%5D&redir=gene) (PP2 - Миссенс вариант в гене, который имеет низкий уровень доброкачественных миссенс изменений и в котором миссенс варианты являются обычным механизмом возникновения заболевания [26])	Вспомогательная: Supporting - BP(1-6)	-
3	In Silico оценка			
	Сильная (Strong): very strong – PVS(1) strong – PS(1-4)	-	Сильная (Strong): Stand-alone – BA(1) strong – BS(1-4)	-
	Средней тяжести: moderate – PM(1-4)	-		
	Вспомогательная: Supporting - PP(1-5)	PP3: 8 in silico программ (MT, DANN, MetaLR, Polyphen-2, LRT, MutationTaster, PhyloP, GERP++) предсказывают патогенетическое влияние (https://franklin.genoox.com/clinical-db/variant/snp/chr7-107315546-A-G?app=assessment-tools ; https://deafnessvariationdatabase.org/gene/SLC26A4) (PP3 - результаты не менее трех программ предсказания подтверждают патогенное воздействие на ген или генный продукт [26])	Вспомогательная: Supporting - BP(1-6)	BP4: 1) 4 in silico программы (MUTAssesor, SIFT, GenoCanyon, fitCons) предсказывают доброкачественное влияние (https://franklin.genoox.com/clinical-db/variant/snp/chr7-107315546-A-G?app=assessment-tools ; https://deafnessvariationdatabase.org/gene/SLC26A4) (BP4 - результаты не менее трех программ предсказания подтверждают отсутствие воздействия варианта на ген или генный продукт [26]) 2) Выравнивание мутантной и нативной структуры белка (p.Ile253Val) показало, что анализируемая замена не влияет на функциональную значимость пендрина
Классификация		PM2 + PP2 + PP3 = недостаточны для классификации патогенности	BP4 = недостаточен для классификации доброкачественности	

с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4*, ранее обнаруженных в других исследованиях [1, 3, 4, 11, 18, 20], выявлено, что у большинства из них (6 из 7) вариант обнаружен в сингл-гетерозиготном состоянии, второго мутантного аллеля не было выявлено (табл. 2). Известен только один случай (1 из 7), где вариант с.757A>G p.(Ile253Val) был выявлен в компаунд-гетерозиготном состоянии с *SLC26A4*-вариантом с.919-2A>G при неонатальном скрининге на глухоту в Китае [11]. Однако авторы сообщают, что на момент аудиологического тестирования у ребенка с генотипом с.[919-2A>G];[757A>G] нарушение слуха не было выявлено, вместе с тем они не исключают вероятность прогрессирования нарушения слуха с возрастом [11].

В связи с отсутствием определенных, сильных признаков для однозначной классификации клинической значимости с.757A>G (клинические и функциональные доказательства) нами проведен *in-silico* анализ данного варианта с использованием нейросетевого алгоритма AlphaFold.

Поскольку в настоящее время кристаллическая модель пространственной структуры белка пендрина (*SLC26A4*) человека экспериментально еще не установлена, с помощью системы AlphaFold была получена нативная модель трехмерной пространственной структуры (рис. 1, а). AlphaFold предсказал качественную модель пендрина с высокой точностью (большая часть участков белка предсказана с >90pLDDT>70), что позволило нам получить необходимую информацию об архитектуре строения мономера. Так, на полученной AlphaFold-модели анализируемая аминокислотная позиция - Ile253, локализована в 6-м сегменте (α6-спираль), который представлен 10 аминокислотными остатками с 252 по 262 (рис. 1, б).

По топологии белка пендрина (*SLC26A4*), которая сложена из 14 трансмембранных сегментов (α-спирали в виде столбцов 1-7 и 8-14, образующие поры канала), 6-й сегмент (α6-спираль) расположен в воротном домене, который в свою очередь состоит из внешних спиралей, 5-7 и 12–14 сегментов [2, 15, 17, 27, 29]. Важно отметить, что анализируемая замена p.Ile253Val находится не в критическом участке корового домена, нарушение которого может привести к неправильной транспортировке субстрата или появлению токсичных конформаций (misfolded proteins) [2, 17, 29]. Известно, что мутантные аминокис-

лотные остатки, расположенные в коровом домене, могут вызвать нарушения проводимости ионного канала *SLC26A4* и стать причиной заболевания, связанных с белком пендрином. Однако не менее важно отметить, что в настоящее время в базе ClinVar аннотирован другой патогенный миссенс-вариант, расположенный также в 6-м сегменте белка - с.754T>C p.(Ser252Pro) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1065210/>). Данная последовательность (Ser252) полипептидной цепи 6 спирали, за которой следует анализируемая нами область (p.Ile253Val), примыкает к петле внеклеточной области пендрина, в связи с этим мутационное изменение в данной области может приводить к функциональному нарушению белка.

Далее на основе AlphaFold-смоделированной нативной структуры пендрина мы провели выравнивание трехмерной укладки мутантной (p.Ile253Val) и нормальной цепей с помощью программы PyMOL (рис. 2). В результате рассчитанный показатель среднеквадратичного отклонения атомных позиций составил RMSD: 1,391 Å. Полученное значение RMSD: 1,268 Å находится в пределах критерия полного сходства (<2 Å) и указывает на то, что изучаемая миссенс-замена не приводит к изменению пространственной структуры синтезируемого белка. Данное сходство двух сравниваемых структур, с незначительным отличием, вероятно, связано с физико-химическими свойствами рассматриваемых аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Известно, что аминокислоты изолейцин и валин относятся к одной функциональной группе аминокислот с гидрофобными незаряженными боковыми радикалами, и их изоэлектрическая точка практически одинакова (Ile: pI = 6,1, -COOH = 2,4, -NH₃ = 9,7; Val: pI = 6,0, -COOH = 2,3, -NH₃ = 9,6).

В общей сложности полученные данные позволили сопоставить признаки (аллельная частота встречаемости, *in-silico* оценка) для классификации клинической значимости варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4* по критериям ACMG [8, 26], которые представлены в табл. 3. Полученная комбинация критериев не позволяет рассматривать его как патогенный или доброкачественный вариант, таким образом, он интерпретируется как вариант неопределенного значения - VUS.

Выводы. Полученные результаты данного исследования свидетельствуют о вероятной доброкачественности

варианта с.757A>G p.(Ile253Val) гена *SLC26A4*, поскольку на это указывают высокая частота встречаемости в популяционных выборках и то, что данная миссенс-замена теоретически не нарушает структурную стабильность белка пендрина (*SLC26A4*). Однако, учитывая редкую встречаемость в мире, отсутствие генотип-фенотипических и функциональных данных, в настоящее время вариант с.757A>G p.(Ile253Val) по критериям ACMG классифицируется как вариант неопределенного значения.

Работа выполнена в рамках НИР ЯНЦ КМП «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии в популяциях Республики Саха (Якутия) и Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (FSRG-2023-0003).

Литература

1. Analysis of *SLC26A4*, *FOX11*, and *KCNJ10* Gene Variants in Patients with Incomplete Partition of the Cochlea and Enlarged Vestibular Aqueduct (EVA) Anomalies / L.A. Klarov, V.G. Pshennikova, G.P. Romanov [et al] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – V. 23. – P. 15372. DOI: 10.3390/ijms232315372.
2. Bassot C. Mapping pathogenic mutations suggests an innovative structural model for the pendrin (*SLC26A4*) transmembrane domain / C. Bassot, G. Minervini, E. Leonardi, S.C.E. Tosatto // *Biochimie.* – 2017. – V. 132. – P. 109-120. DOI: 10.1016/j.biochi.2016.10.002.
3. Common molecular etiologies are rare in nonsyndromic Tibetan Chinese patients with hearing impairment / Y. Yuan, X. Zhang, S. Huang [et al] // *PLoS One.* – 2012. – V. 7(2):e30720. DOI: 10.1371/journal.pone.0030720.
4. Comprehensive molecular etiology analysis of nonsyndromic hearing impairment from typical areas in China / Y. Yuan, Y. You, D. Huang [et al] // *J Transl Med.* – 2009. – V. 7. – P. 79. DOI: 10.1186/1479-5876-7-79.
5. Concurrent newborn hearing and genetic screening of common hearing loss variants with bloodspot-based targeted next generation sequencing in Jiangxi province / H. Luo, Y. Yang, X. Wang [et al] // *Front Pediatr.* – 2022. – V. 10. – P. 1020519. DOI: 10.3389/fped.2022.1020519.
6. Del Castillo F.J. DFNB1 Non-syndromic Hearing Impairment: Diversity of Mutations and Associated Phenotypes / F.J. Del Castillo, I. Del Castillo // *Front Mol Neurosci.* – 2017. – V. 10. – P. 428. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00428.
7. Diagnostic Yield of Targeted Hearing Loss Gene Panel Sequencing in a Large German Cohort With a Balanced Age Distribution from a Single Diagnostic Center: An Eight-year Study / A. Tropitzsch, T. Schade-Mann, P. Gamberinger [et al] // *Ear Hear.* – 2022 – V. 43(3). – P. 1049-1066. DOI: 10.1097/AUD.0000000000001159.
8. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss / A.M. Oza, M.T. DiStefano, S.E. Hemphill [et al] // *Hum Mutat.* – 2018. – V. 39(11). – P. 1593-1613. DOI: 10.1002/humu.23630.
9. Genetic Epidemiology and Clinical Features of Hereditary Hearing Impairment in the Tai-

wanese Population / C-C. Wu, C-Y. Tsai, Y-H. Lin [et al] // *Genes*. – 2019. – V. 10(10). – P. 772. DOI: 10.3390/genes10100772.

10. Genetic screening of a Chinese cohort of children with hearing loss using a next-generation sequencing panel / J. Ma, X. Ma, K. Lin [et al] // *Hum Genomics*. – 2023. – V. 7(1). – P. 1. DOI: 10.1186/s40246-022-00449-1.

11. Genotyping and audiological characteristics of infants with a single-allele SLC26A4 mutation / X. Zhao, L. Huang, X. Wang [et al] // *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* – 2019. – V. 116. – P. 153-158. DOI: 10.1016/j.ijporl.2018.10.046.

12. Global genetic insight contributed by consanguineous Pakistani families segregating hearing loss / Richard EM, Santos-Cortez RLP, Faridi R, [et al] // *Hum Mutat.* – 2019. – V. – 40(1). – P. 53-72. DOI: 10.1002/humu.23666.

13. Highly accurate protein structure prediction for the human proteome / K. Tunyasuvunakool, J. Adler, Z. Wu [et al] // *Nature*. – 2021. – V. 596(7873). – P. 590-596. doi: 10.1038/s41586-021-03828-1.

14. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold / J. Jumper, R. Evans, A. Pritzel [et al] // *Nature*. – 2021. – V. 596. – P. 583-589. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2.

15. Human SLC26A4/Pendrin STAS domain is a nucleotide-binding protein: Refolding and characterization for structural studies / A.K. Sharma, T. Krieger, A.C. Rigby [et al] // *Biochem Biophys Rep.* – 2016. – V. 8. – P. 184-191. DOI: 10.1016/j.bbrep.2016.08.022.

16. Increased diagnostic yield in a cohort of hearing loss families using a comprehensive stepwise strategy of molecular testing / B. Zeng, H. Xu, Y. Yu [et al] // *Front Genet.* – 2022. – V. 13. – P. 1057293. DOI: 10.3389/fgene.2022.1057293.

17. Molecular architecture and the structural basis for anion interaction in prestin and SLC26

transporters / D. Gorbunov, M. Sturlese, F. Nies [et al] // *Nat Commun.* – 2014. – V. 5. – P. 3622. DOI: 10.1038/ncomms4622.

18. Molecular epidemiology and functional assessment of novel allelic variants of SLC26A4 in non-syndromic hearing loss patients with enlarged vestibular aqueduct in China / Y. Yuan, W. Guo, J. Tang [et al] // *PLoS One*. – 2012. – V. 7(11):e49984. DOI: 10.1371/journal.pone.0049984.

19. Morton C.C. Newborn hearing screening – a silent revolution / C.C. Morton, W.E. Nance // *N Engl J Med.* – 2006. – V. 354(20). – P. 2151-2164. DOI: 10.1056/NEJMra050700.

20. Novel mutations of SLC26A4 in Chinese patients with nonsyndromic hearing loss / Yao G, Chen D, Wang H, [et al] // *Acta Otolaryngol.* – 2013. – V. 133(8). – P. 833-41. DOI: 10.1097/00016489.2013.777160.

21. Pendred Syndrome Is Caused by Pathogenic variants in a Putative Sulphate Transporter Gene (PDS) / L.A. Everrett, B. Glaser, J.C. Beck [et al] // *Nat. Genet.* – 1997. – V. 17. – P. 411-422. DOI: 10.1038/ng1297-411.

22. Pendrin, Encoded by the Pendred Syndrome Gene, Resides in the Apical Region of Renal Intercalated Cells and Mediates Bicarbonate Secretion / I.E. Royaux, S.M. Wall, L.P. Karniski, [et al] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – V. 98. – P. 4221-4226. DOI: 10.1073/pnas.071516798.

23. Scott D.A. Human Pendrin Expressed in *Xenopus* Laevis Oocytes Mediates Chloride/Formate Exchange / D.A. Scott, L.P. Karniski // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2000. – V. 278. – P. 207-211. DOI: 10.1152/ajpcell.2000.278.1.C207.

24. Soleimani M. Molecular physiology of the renal chloride-formate exchanger / M. Soleimani // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2001. – V. 10. – P. 677-683. DOI:

10.1097/00041552-200109000-00020.

25. 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) / N.A. Barashkov, V.G. Pshennikova, O.L. Posukh [et al] // *PLoS One*. – 2016. – V. – 11(5):e0156300. DOI: 10.1371/journal.pone.0156300.

26. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / S. Richards, N. Aziz, S. Bale [et al] // *Genet Med.* – 2015. – V. 17(5). – P. 405-24. DOI: 10.1038/gim.2015.30.

27. Structure of a prokaryotic fumarate transporter reveals the architecture of the SLC26 family / E.R. Geertsma, Y.N. Chang, F.R. Shaik [et al] // *Nat Struct Mol Biol.* – 2015. – V. 22. – P. 803-808. DOI: 10.1038/nsmb.3091.

28. The Pendred Syndrome Gene Encodes a Chloride-Iodide Transport Protein / D.A. Scott, R. Wang, T.M. Kreman [et al] // *Nat. Genet.* – 1999. – V. 21. – P. 440-443. DOI: 10.1038/7783.

29. The Pendrin Polypeptide. In: Dossena, S., Paulmichl, M. (eds) *The Role of Pendrin in Health and Disease* / S. Dossena, E. Bernardinelli, A.K. Sharma [et al] // Springer, Cham. – 2017. – P. 187-220. DOI: 10.1007/978-3-319-43287-8_11.

30. Thiocyanate transport in resting and IL-4-stimulated human bronchial epithelial cells: role of pendrin and anion channels / N. Pedemonte, E. Caci, E. Sondo [et al] // *J Immunol.* – 2007. – V. 178. P. 5144-5153. DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.5144.

31. Whole-exome sequencing identifies genetic variants of hearing loss in 113 Chinese families / J. Pan, S. Ma, Y. Teng [et al] // *Clin Chim Acta.* – 2022. – V. 532. – P. 53-60. DOI: 10.1016/j.cca.2022.05.020.

DOI 10.25789/YMJ.2023.83.21

УДК 579.61; 616.31; 616.8-092

Н.В. Давидович, А.С. Галиева, Н.Н. Кукалевская,
Е.Н. Башилова, Н.Г. Давыдова, А.С. Оправин, Т.А. Бажукова

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск: **ДАВИДОВИЧ Наталия Валерьевна** – к.м.н., доцент, nvddavidovich@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>, **ГАЛИЕВА Александра Сергеевна** – ассистент кафедры, alexgalieva@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7037-7730>, **КУКАЛЕВСКАЯ Наталья Николаевна** – ассистент кафедры, n.kukalevskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3371-1485>, **БАШИЛОВА Елена Николаевна** – к.м.н., доцент, ebashilova@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-9247-6633>, **ДАВИДОВА Надежда Геннадьевна** – к.м.н., доцент, nadindavydova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0700-4261>, **ОПРАВИН Александр Сергеевич** – д.м.н., проф., зав.кафедрой, opravin_52@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0057-3357>, **БАЖУКОВА Татьяна Александровна** – д.м.н., проф., зав.кафедрой, tbazhukova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7890-2341>.

Определен уровень секреции адгезивных молекул семейства селектинов и суперселектинов иммуноглобулинов в зубодесневом кармане и их взаимосвязи с маркерными пародонтопатогенами. Для исследования были получены смывы зубодесневого кармана пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и интактным пародонтом. Выявленные повышенные концентрации растворимых адгезивных молекул sICAM-1, sVCAM, sE- и sL-селектина могут свидетельствовать об альтерации эндотелиальных клеток вследствие персистирующего воспалительного процесса, вызванного факторами вирулентности специфической субгингивальной бактериальной флоры.

Ключевые слова: хронический генерализованный пародонтит, пародонтопатогенные бактерии, воспаление, молекулы адгезии, эндотелиальная дисфункция.

The aim of the study was to determine the level of secretion of adhesive molecules of the selectin family and the superfamily of immunoglobulins in the gingival/periodontal pocket and their relationship with marker periodontal pathogens. For the study, flushes of the gingival pocket (a total of 88 samples) of patients with chronic generalized periodontitis and intact periodontitis were obtained. Thus, elevated concentrations of the soluble adhesive molecules sICAM-1, sVCAM, sE- and sL-selectin may indicate endothelial cell alteration due to persistent inflammatory process caused by virulence factors of specific subgingival bacterial flora.

Keywords: chronic generalized periodontitis, periodontal pathogenic bacteria, inflammation, adhesion molecules, endothelial dysfunction.