

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

## РЕДКИЙ ВАРИАНТ с.7636С>Т р.(Gln2546\*) ГЕНА MYO15A У ДВОИХ ПАЦИЕНТОВ ИЗ БУРЯТИИ С СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ГЛУХОТОЙ

DOI 10.25789/YMJ.2024.85.07

УДК 575.1

Роль патогенных вариантов гена *MYO15A* в этиологии потери слуха в мире слабо изучена, поскольку относительно крупный размер гена (66 экзонов) предполагает поиск каузативных вариантов с использованием NGS технологий, которые пока в недостаточной степени используются в рутинной практике. Целью данной работы является описание редкого варианта с.7636С>Т р.(Gln2546\*) гена *MYO15A*, обнаруженного в гомозиготном состоянии у двоих сибсов с прелингвальной глубокой сенсоневральной потерей слуха из бурятской семьи. Ранее этот вариант был найден только у одного пациента в компаунд-гетерозиготном состоянии с другим нонсенс-вариантом гена *MYO15A* в Бразилии и описан как патогенный. Идентификация варианта с.7636С>Т р.(Gln2546\*) в гомозиготном состоянии у бурятских сибсов может свидетельствовать либо о редком случае эндогамного брака, либо о более широком распространении данного варианта в регионе озера Байкал.

**Ключевые слова:** аутосомно-рецессивная глухота (DFNB3), ген *MYO15A*, вариант с.7636С>Т р.(Gln2546\*), Республика Бурятия.

The role of pathogenic variants of the *MYO15A* gene in the etiology of hearing loss has not been sufficiently studied in the world, since the larger size of the gene (66 exons, 71 kb) suggests the search for pathogenic variants using NGS technologies, which are not yet sufficiently used in routine practice. In this regard, it is relevant to study the role of pathogenic variants of the *MYO15A* gene in the etiology of non-syndromic forms of hearing impairments. The purpose of this work is to describe the rare pathogenic variant с.7636С>Т р.(Gln2546\*) in the *MYO15A* gene, found in a homozygous state in two siblings with prelingual profound sensorineural hearing loss from a Buryat family. Previously, this variant was found only in one patient in a compound-heterozygous state with another nonsense variant in the *MYO15A* gene in Brazil and described as pathogenic. Detection of variant с.7636С>Т р.(Gln2546\*) in a homozygous state in Buryat siblings may indicate either a rare case of endogamous marriage or a wider distribution of this variant in the Lake Baikal region.

**Keywords:** autosomal recessive deafness (DFNB3), *MYO15A* gene, variant с.7636С>Т р.(Gln2546\*), Republic of Buryatia.

**Введение.** В России, по результатам аудиологического скрининга новорожденных, за 2013 г. диагноз тугоухости был подтвержден у 3 из 1000 новорожденных, из них глухота выявлена в 0,6 случая на 1000 новорожденных [1].

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, г. Якутск: **ЧЕРДОНОВА Александра Матвеевна** – аспирант, cherdonovasasha96@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4168-9516, **БОРИСОВА Туяра Валерьевна** – аспирант, borisovav96@gmail.com, ORCID: 0000-0002-5019-067X, **СОЛОВЬЕВ Айсен Васильевич** – к.б.н., с.н.с., nelloann@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0914-3609, **РОМАНОВ Георгий Прокопьевич** – к.б.н., н.с., gpromanov@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2936-5818, **ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна** – д.б.н., гл.н.с., sardaanafedorova@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6952-3868.

Якутский научный центр комплексных медицинских проблем: **ТЕРЮТИН Федор Михайлович** – к.м.н., с.н.с., rest26@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8659-0886, **ПШЕННИКОВА Вера Геннадиевна** – к.б.н., в.н.с.-руковод. лаб., psennikovavera@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6866-9462, **БАРАШКОВ Николай Алексеевич** – к.б.н., в.н.с.-руковод. лаб., barashkov2004@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6984-7934.

Считается, что половина всех случаев нарушений слуха имеет наследственную этиологию и из них большая часть (70%) является несиндромальной. В настоящее время с несиндромальной формой потери слуха ассоциировано более 120 генов, из которых около 70 генов связаны с аутосомно-рецессивными формами [8]. Одними из первых генов, ассоциированных с аутосомно-рецессивными нарушениями слуха, были *GJB2* (DFNB1A, OMIM #121011), *MYO7A* (DFNB2, OMIM #276903) и *MYO15A* (DFNB3, OMIM #602666). Однако в настоящее время из этих трех генов наиболее хорошо изученными являются ген *GJB2* (2 экзона) - при несиндромальных формах [7] и ген *MYO7A* (56 экзонов) – при синдроме Ушера [6]. Поскольку ген *MYO15A* ассоциирован с несиндромальной формой потери слуха (менее специфичный фенотип, чем синдром Ушера) и имеет достаточно крупный размер (66 экзонов), его роль в этиологии потери слуха в мире изучена в меньшей степени. В настоящее время большинство патогенных вариантов в гене *MYO15A* обнаруживаются с использованием NGS технологий. Ген *MYO15A* локализован на 7-й хромо-

соме (17p11.2) и кодирует нетрадиционный миозин 15A, состоящий из 3530 аминокислотных остатков [8]. Миозин 15A экспрессируется на кончиках стереоцилий волосковых клеток улитки [2] и необходим для их удлинения, а также для доставки молекул к кончикам стереоцилий [17].

В России среди 226 *GJB2*-негативных пациентов с нарушениями слуха у одного пациента в гене *MYO15A* в компаунд-гетерозиготном состоянии было обнаружено два каузативных варианта с.6046+1G>A (донорный сайт сплайсинга) и с.8910del р.(Val2971fs\*63) [15]. Мутационный вклад гена *MYO15A* среди российских пациентов составил менее 1% [15]. Однако недавно у одного пациента из Северной Осетии были обнаружены еще два каузативных варианта с.3576G>A р.(Trp1192Ter) и с.5192T>C р.(Phe1731Ser) в гене *MYO15A* [12].

Таким образом, актуальным является молекулярно-генетический поиск каузативных вариантов гена *MYO15A* в когортах пациентов с несиндромальными формами тугоухости и глухоты, что будет способствовать развитию нашего понимания о роли данного гена в этиологии потери слуха. В свя-

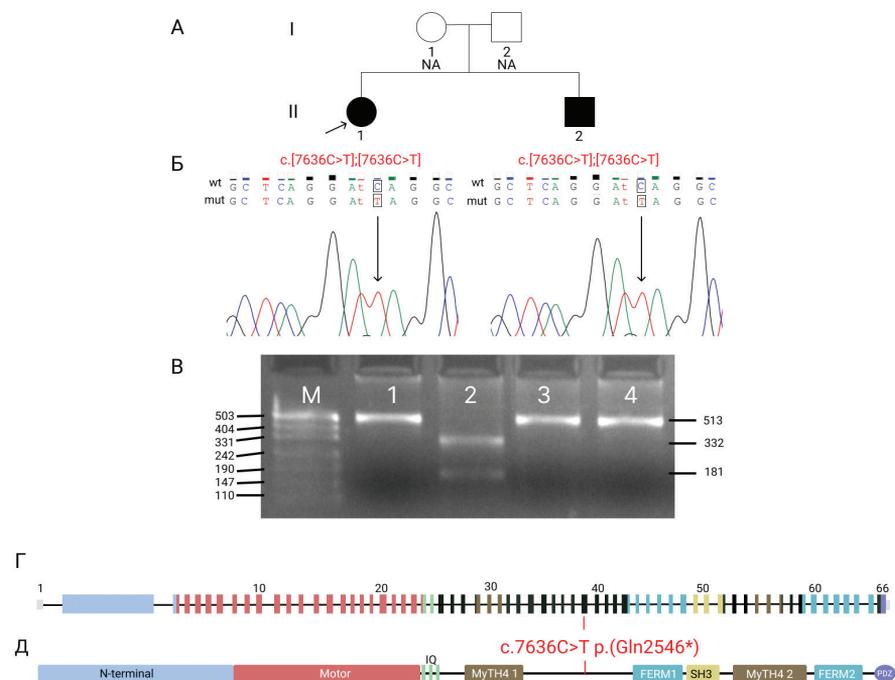
зи с этим целью данной работы является описание варианта с.7636C>T p.(Gln2546\*) в гене *MYO15A*, обнаруженного в гомозиготном состоянии у двоих сибсов из бурятской семьи.

**Материалы и методы.** Было исследовано двое разнополых сибсов с нарушениями слуха из одной бурятской семьи, возраст которых на момент исследования составил 69 и 65 лет. Обследования, предусмотренные рамками данной научно-исследовательской работы, проводились после информированного письменного согласия участников. Научно-исследовательская работа одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП в 2019 г. (г. Якутск, протокол №7 от 27 августа 2019 г.).

Исследование слуха проведено с помощью пороговой тональной аудиометрии с использованием аудиометра «AA222» («Interacoustics», Дания) по воздушному и костному проведению на частотах 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 кГц. Степень потери слуха оценивали по среднему порогу слышимости в РДЧ<sub>0,5;1,0;2,0;4,0</sub> кГц по классификации, принятой ВОЗ: I степень - 26-40 дБ, II степень - 41-55, III степень - 56-70, IV степень - 71-90, глухота - >90 дБ.

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови фенольно-хлороформным методом. Массовое параллельное секвенирование (МПС) было проведено у одного *GJB2*-негативного пациента с отягощенным наследственным анамнезом (пробанд – женщина 69 лет). МПС участков геномной ДНК, соответствующих эксонам и сайтам сплайсинга генов, ассоциированных с наследственной тугоухостью (158 генов), было проведено на секвенаторе HiSeq 1500, Illumina с реактивами HiSeq Rapid SBS Kit v2. Медианное покрытие экзона составило 110х. Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание чтений на референсную последовательность генома человека (GRCh37/hg19).

Поиск патогенного варианта с.7636C>T p.(Gln2546\*) в 39 экзоне гена *MYO15A* был проведен у брата пробанда (сибс, 65 лет) с помощью ПЦР-ПДРФ анализа. Для амплификации фрагментов в 39 экзоне гена *MYO15A* (513 п.н.) были использованы праймеры (F) 5'-CCTGTTCTCCACAGAAACCC-3' и (R) 5'-AACCCAGTAAGCTGGTGGGC-3', подобранные с помощью программы Primer BLAST. Для рестрикции использована эндонуклеаза *AclWI* с сайтом рестрикции GGATC(N)4↑.



Идентификация патогенного варианта с.7636C>T p.(Gln2546\*) гена *MYO15A* в бурятской семье и структура гена *MYO15A*: А – фрагмент родословной бурятской семьи; Б – хроматограммы результатов секвенирования 39 экзона гена *MYO15A* с вариантом с.7636C>T p.(Gln2546\*) в гомозиготном состоянии у пробанда (указан стрелкой, II-1) и сибса (II-2). NA – генотип не выяснен; В – электрофореграммы результатов ПЦР-ПДРФ анализа: М – маркер молекулярного веса *pUC 19/Msp I*, 1 – образец, не обработанный эндонуклеазой *AclWI* (513 п.н.), 2 – контрольный образец без варианта с.7636C>T (сохранный сайт рестрикции для *AclWI* – 332 п.н. и 181 п.н.), генотип - с.[wt];[wt], 3 и 4 – образцы с вариантом с.7636C>T в гомозиготном состоянии у пробанда и сибса (потерян сайт рестрикции для *AclWI* – 513 п.н.); Г – структурная организация гена *MYO15A*: 66 экзонов представлены в виде прямоугольников; Д – расположение доменов белка миозина 15А [13]

Верификация результатов ПЦР-ПДРФ анализов была проведена секвенированием по Сэнгеру.

**Результаты и обсуждение.** Массовое параллельное секвенирование проведено у одного пациента с выявленным отягощенным наследственным анамнезом (слышащие родители, глухой сибс), у которого не было обнаружено каузативных вариантов в гене *GJB2*. В результате был выявлен нонсенс-вариант с.7636C>T p.(Gln2546\*) (rs765936685) в 39 экзоне гена *MYO15A* в гомозиготном состоянии, ранее известный как патогенный (рисунок). Данный вариант приводит к замене аминокислоты глутамин на стоп-кодон в 2546-м аминокислотном положении, что вызывает преждевременную терминацию трансляции полипептидной цепи миозина 15А. Наличие данного варианта было верифицировано с помощью ПЦР-ПДРФ с последующим секвенированием по Сэнгеру. Данный вариант также был обнаружен в гомозиготном состоянии и у брата пробанда.

Вариант с.7636C>T p.(Gln2546\*) в

базе данных Deafness Variation Database (DVD) представлен как патогенный ([https://deafnessvariationdatabase.org/gene/MYO15A\\_17:18054586:C>T](https://deafnessvariationdatabase.org/gene/MYO15A_17:18054586:C>T)). В этой базе аннотировано всего 12666 вариантов, из которых 375 являются патогенными / вероятно патогенными [18]. В базах данных ClinVar и gnomAD вариант с.7636C>T p.(Gln2546\*) на момент исследования не был представлен, вероятно, из-за отсутствия фенотипического описания.

В настоящей работе вариант с.7636C>T p.(Gln2546\*) в гене *MYO15A* идентифицирован в гомозиготном состоянии впервые. Ранее данный вариант был обнаружен только у одного пациента с двусторонним нарушением слуха в компаунд-гетерозиготном состоянии с вариантом с.9319G>T p.(Glu3107\*) в Бразилии [16]. Однако описание характера и степени и тяжести потери слуха в данном исследовании не приводится [16]. В нашем случае аудиологический анализ порогов слуха у пробанда и ее сибса выявил сенсоневральную глубокую потерю слуха (двусторонняя глухота). Дебют

нарушения слуха, вероятнее всего, приходится либо на ранний детский возраст, либо является врожденным. Оба сибса учились в школе слабослышащих и глухих и в быту используют только жестовый язык. Нарушений в других органах и системах не обнаружено.

Ранее патогенный вариант с.2674A>T p.(Ile892Phe) гена *MYO15A* (DFNB3, 600316) в гомозиготном состоянии с высокой частотой был обнаружен на острове Бали (Индонезия), где 2,2% популяции имели тяжелую/глубокую потерю слуха [3, 5]. Однако в последующих работах при изучении спектра и частоты каузативных вариантов в гене *MYO15A* среди пациентов с нарушениями слуха в разных регионах мира было показано, что на Ближнем Востоке также наблюдается большее количество вариантов в гомозиготном состоянии [10]. Напротив, в Европе среди пациентов с нарушениями слуха наблюдается преобладание компаунд-гетерозиготных вариантов в гене *MYO15A* [10]. Авторы предполагают, что на такое накопление гомозиготных вариантов на Ближнем Востоке оказывает влияние обычай кровнородственных браков [10]. Кроме того, известно, что в данном регионе мира показано наличие эффекта основателя в распространении отдельных вариантов гена *MYO15A* (с.5807\_5813delCCCGTGGG и с.9995\_10002dupGCCGGCCC в Турции, с.1171\_1177dupGCCATCT в Омане) [4, 14], в то время как в Европе до настоящего времени не описаны случаи эффекта основателя по вариантам гена *MYO15A* [11]. В нашем случае в Бурятии мы обнаружили вариант с.7636C>T p.(Gln2546\*) гена *MYO15A* в гомозиготном состоянии, что может свидетельствовать либо о редком случае эндогамного брака, либо о более широком распространении данного варианта в регионе озера Байкал. В связи с этим требуются дальнейшие исследования по оценке вклада этого варианта в этиологию нарушений слуха в Республике Бурятия.

**Заключение.** В данной работе ред-

кий патогенный вариант с.7636C>T p.(Gln2546\*) впервые обнаружен в гомозиготном состоянии у двоих пациентов с врожденной глубокой потерей слуха. Обнаружение данного варианта в гомозиготном состоянии у двоих сибсов из бурятской семьи может свидетельствовать либо о редком случае эндогамного брака, либо о более широком распространении данного варианта в регионе озера Байкал, что требует дальнейших исследований по оценке вклада этого варианта в этиологию нарушений слуха в Республике Бурятия.

*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. Российский и международный опыт реализации программ универсального аудиологического скрининга новорожденных / Г.А. Таваркиладзе, Т.Г. Маркова, С.С. Чибисова [и др.] // Вестник оториноларингологии. 2016. №81(2). С.7-12.
2. The Russian and international experience with the implementation of the programs of universal audiological screening of the newborn infants / G.A. Tavartkiladze, T.G. Markova, S.S. Chibisova [et al.] // Vestnik Oto-Rino-Laringologii. 2016. №81(2). P.7-12. <https://doi.org/10.17116/otorino20168127-12>
3. Belyantseva, I.A., Boger, E.T., Friedman, T.B. Myosin XVa localizes to the tips of inner ear sensory cell stereocilia and is essential for staircase formation of the hair bundle / I.A. Belyantseva, E.T. Boger, T.B. Friedman // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2003. - №100(24). – P.13958-63. doi: 10.1073/pnas.2334417100.
4. A gene for congenital, recessive deafness DFNB3 maps to the pericentromeric region of chromosome 17 / T.B. Friedman, Y. Liang, J.L. Weber [et al.] // Nat Genet. – 1995. - №9(1). – P.86-91. doi: 10.1038/ng0195-86.
5. A novel founder MYO15A frameshift duplication is the major cause of genetic hearing loss in Oman / F. Palombo, N. Al-Wardy, G.A. Ruscone [et al.] // J Hum Genet. – 2017. - №62(2). P.259-264. doi: 10.1038/jhg.2016.120.
6. Association of unconventional myosin MYO15 mutations with human nonsyndromic deafness DFNB3 / A. Wang, Y. Liang, R.A. Fridell [et al.] // Science. – 1998. – №280. – P.1447–1451. - doi: 10.1126/science.280.5368.1447.
7. Castiglione A., Möller C. Usher Syndrome. / A. Castiglione, C. Möller // Audiol Res. – 2022. - №12(1). – P.42-65. doi: 10.3390/audiolres12010005.
8. Chan D.K., Chang K.W. GJB2-associated hearing loss: systematic review of worldwide prevalence, genotype, and auditory phenotype / D.K. Chan, K.W. Chang // Laryngoscope. – 2014. – №124(2). - E34-53. doi: 10.1002/lary.24332.
9. Characterization of the human and mouse unconventional myosin XV genes responsible for hereditary deafness DFNB3 and shaker 2 / Y. Liang, A. Wang, I.A. Belyantseva [et al.] // Genomics. – 1999. - №61(3). – P.243-58. doi: 10.1006/geno.1999.5976.
10. Genetic etiology of non-syndromic hearing loss in Europe / I. Del Castillo, M. Morín, M. Domínguez-Ruiz [et al.] // Hum Genet. – 2022. - №141(3-4) – P.683-696. doi: 10.1007/s00439-021-02425-6.
11. Genotype-phenotype correlation analysis of MYO15A variants in autosomal recessive non-syndromic hearing loss / Zhang J, Guan J, Wang H [et al.] // BMC Med Genet. – 2019. - №20(1). P.60. doi: 10.1186/s12881-019-0790-2.
12. Global Distribution of Founder Variants Associated with Non-Syndromic Hearing Impairment / E.T. Aboagye, S.M. Adadey, E. Wonkam-Tingang [et al.] // Genes. – 2023. - №14(2). - P-399. <https://doi.org/10.3390/genes14020399>
13. Hereditary etiology of non-syndromic sensorineural hearing loss in the Republic of North Ossetia-Alania / N. Petrova, I. Tebieva, V. Kordyshev [et al.] // PeerJ. – 2023 - №11:e14514. doi: 10.7717/peerj.14514.
14. Mutational Spectrum of MYO15A and the Molecular Mechanisms of DFNB3 Human Deafness / A.U. Rehman, J.E. Bird, R. Faridi [et al.] // Hum Mutat. – 2016. - №37(10). – P.991-1003. doi: 10.1002/humu.23042.
15. Recurrent and private MYO15A mutations are associated with deafness in the Turkish population / F.B. Cengiz, D. Duman, A. Sirmaci, [et al.] // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. – 2010. - №14. – P.543–550. doi: 10.1089/gtmb.2010.0039.
16. Spectrum of Genes for Non-GJB2-Related Non-Syndromic Hearing Loss in the Russian Population Revealed by a Targeted Deafness Gene Panel / O. Shatokhina, N. Galeeva, A. Stepanova [et al.] // Int J Mol Sci. – 2022. - №23(24). – P.15748. doi: 10.3390/ijms232415748.
17. Targeted Resequencing of Deafness Genes Reveals a Founder MYO15A Variant in Northeastern Brazil / G.N. Manzoli, G. Bademci, A.X. Acosta [et al.] // Ann Hum Genet. – 2016. - №80(6). – P.327-331. doi: 10.1111/ahg.12177.
18. The 133-kDa N-terminal domain enables myosin 15 to maintain mechanotransducing stereocilia and is essential for hearing / Q. Fang, A.A. Indzhukulian, M. Mustapha [et al.] // Elife. – 2015. - №24;4:e08627. doi: 10.7554/eLife.08627.
19. Van Camp, G., Smith, R.J.H. Hereditary Hearing Loss Homepage. <https://hereditaryhearingloss.org>.