

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

на правах рукописи

БАДЫ-ХОО МАРИТА СЕРГЕЕВНА

ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ И
РАСПРОСТРАНЕННОСТИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ГЛУХОТЫ В
РЕСПУБЛИКЕ ТЫВА

03.02.07. генетика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
к.б.н., с.н.с. О.Л. Посух

НОВОСИБИРСК – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Этиология и типы нарушений слуха	14
1.2. Генетические формы потери слуха	15
1.3. Ген <i>GJB2</i> , кодирующий трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26)	17
1.4. Частота встречаемости и спектр мутаций гена <i>GJB2</i>	19
1.5. Эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования наследуемых форм потери слуха в России	21
1.6. Социальные аспекты изучения наследуемых форм потери слуха	25
1.6.1. Сообщества глухих людей - «Deaf Culture»	26
1.6.2. Брачная структура глухих людей	27
1.6.3. Репродукция глухих людей	29
1.6.4. Некомплементарные браки	31
1.7. Тувинцы – коренное население Республики Тыва	31
1.7.1. Исторические и этнографические сведения о тувинцах	32
1.7.2. Популяционно-генетические исследования в Республике Тыва	36
1.7.3. Генетико-эпидемиологические и медико-генетические исследования в Республике Тыва	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	40
Источники информации для создания базы данных о больных с потерей слуха в Республике Тыва	40
Характеристика выборки больных для молекулярно-генетических исследований	41
Контрольная выборка	43
Источники информации для социально-демографической части исследований	43
Сегрегационный анализ	44
Молекулярно-генетические методы	45
Экстракция ДНК	45
Выявление мутаций гена <i>GJB2</i>	45
Очистка фрагментов ДНК от компонентов реакции ПЦР	47
Секвенирование по Сэнгеру	47
Статистические методы	48

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	49
3.1. Результаты эпидемиологического исследования нарушений слуха в Республике Тыва	49
3.1.1. Создание информационной базы данных о больных с потерей слуха в Республике Тыва	49
3.1.2. Анализ степени и типа потери слуха у больных	50
3.1.3. Распространенность нарушений слуха в Республике Тыва	54
3.1.4. Сегрегационный анализ	56
3.2. Результаты молекулярно-генетического исследования наследственной глухоты в Республике Тыва	60
3.2.1. <i>GJB2</i> -генотипы, выявленные в исследованных выборках	61
3.2.2. <i>GJB2</i> -генотипы в подгруппах больных	65
3.2.3. Мутационный спектр гена <i>GJB2</i> в исследованной выборке больных	67
3.2.4. Частота мутаций гена <i>GJB2</i> у тувинских больных и в контрольной выборке тувинцев	71
3.2.5. Частота гетерозиготного носительства мутаций гена <i>GJB2</i> в контрольной выборке тувинцев	72
3.3. Анализ социо-демографических параметров, брачного статуса / брачной структуры, параметров репродукции и степени социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва	74
3.3.1. Брачный статус и брачная структура глухих людей в Республике Тыва	74
3.3.2. Анализ структуры браков глухих людей	77
3.3.3. Анализ репродукции глухих людей	78
3.3.4. Оценка социального статуса людей с тяжелой потерей слуха в Республике Тыва	82
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ	88
4.1. Эпидемиологический и сегрегационный анализ потери слуха у населения Республики Тыва	88
4.2. Мутационный спектр гена <i>GJB2</i> и оценка его патогенетического вклада в возникновение потери слуха у коренного населения Республики Тыва	91
Мутационный спектр гена <i>GJB2</i> у тувинцев	92
Патогенетический вклад гена <i>GJB2</i> в возникновение потери слуха у коренного населения Республики Тыва	94
Необходимость генетического тестирования в более широкой категории больных с потерей слуха	95
Группа больных, имеющих одну <i>GJB2</i> мутацию	96

«Сх26-негативные» больные	97
4.3. Социо-демографические параметры, брачный статус / брачная структура, параметры репродукции и степени социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва	99
Брачный статус / брачная структура глухих людей в Республике Тыва	99
Репродукция глухих людей в Республике Тыва	101
Степень социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	105
ВЫВОДЫ	109
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	111
ПРИЛОЖЕНИЯ I, II, III	130

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

DFNB1 – аутосомно-рецессивный локус 1 несиндромальных форм глухоты

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

мтДНК - митохондриальная ДНК

GJB2 (gap junction $\beta 2$) - ген коннексина 26

Cx26 (connexin 26) – трансмембранный белок коннексин 26

п.н. – пары нуклеотидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

F (forward) – прямой праймер

R (reverse) – обратный праймер

nX – кратность раствора

дБ – децибелы

ННТ/Г - несиндромальная нейросенсорная тугоухость/глухота

МСЭ - Медико-социальная экспертиза

РО ВОГ - Региональное отделение Всероссийского общества глухих

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Потеря слуха является важной медико-социальной проблемой, затрагивающей более чем 10% населения мира. Нарушения слуховой функции могут быть обусловлены как средовыми (низкий вес при рождении, инфекции, травмы, ототоксичность лекарственных препаратов и т.д.), так и генетическими причинами. В настоящее время наследственные формы потери слуха не поддаются лечению, поэтому основной проблемой, на решение которой должны быть направлены усилия, является разработка наиболее эффективных мер социальной реабилитации людей с потерей слуха. Первые годы жизни ребенка во многих аспектах являются критическими для возникновения речи, познавательных навыков и психо-эмоционального развития. Точная молекулярно-генетическая диагностика, направленная на выявление этиологических генетических факторов нарушения слуха, позволяет своевременно предпринять соответствующие реабилитационные меры (слухопротезирование, коррекционное обучение), оценить генетический риск и провести медико-генетическое консультирование семей, отягощенных патологией. В региональном масштабе, важными задачами являются получение оценки генетической компоненты в этиологии тугоухости/глухоты у населения и выявление особенностей распространенности различных форм «генетической глухоты». Получение таких оценок осложняется экстремально высокой клинической и генетической гетерогенностью наследуемых форм потери слуха. В настоящее время известно не менее 300-400 синдромов, одним из клинических признаков которых является снижение/потеря слуха [Toriello, Smith, 2013], но преобладающей формой (~ 70%) является несиндромальная (изолированная) нейросенсорная тугоухость/глухота, 75-80% которой имеет аутосомно-рецессивный тип наследования, 15-20% - аутосомно-доминантный, 3-5% - сцеплена с X-хромосомой либо обусловлена мутациями

мтДНК [Morton, Nance, 2006]. К настоящему времени в ассоциации с несиндромальной потерей слуха известно около 140 генетических локусов и идентифицировано несколько десятков генов, кодирующих разнообразные по структуре и функции белки, участвующие в восприятии слуха [Van Camp, Smith, 2015].

Несмотря на широкое разнообразие генетического контроля нарушений слуховой функции, известно, что наибольший патогенетический вклад в развитие изолированной потери слуха во многих популяциях мира имеет ген *GJB2* (13q11-q12, MIM #121011). В настоящее время известно более 300 мутаций, полиморфных вариантов и неклассифицированных пока вариаций последовательности гена *GJB2* [Stenson et al., 2014; Van Camp, Smith, 2015]. Выявлена этническая и территориальная специфичность мутационного спектра и распространенности отдельных мутаций гена *GJB2* в различных популяциях мира.

Наряду с известными факторами, влияющими на частоту многих моногенных заболеваний (этнический состав населения, изоляция, эффекты основателя и «бутылочного горлышка», доля близкородственных браков), предполагается, что в распространенности наиболее частой генетической формы потери слуха, обусловленной мутациями гена *GJB2* (Cx26), важную роль играют и определенные социальные факторы: долговременная традиция заключения ассортативных браков между глухими людьми, в сочетании с ростом их социальной адаптации и биологической приспособленности (genetic fitness) [Nance et al., 2000; Nance, 2003; Nance, Kearsey, 2004].

Цель и задачи работы

Целью данного исследования является эпидемиологический анализ случаев нарушения слуха и оценка генетической компоненты в их этиологии у населения Республики Тыва.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы следующие **задачи**:

1. Создание единой базы данных о больных с различными формами тугоухости/глухоты в Республике Тыва, эпидемиологический анализ нарушений слуха у населения Республики и формирование выборки пациентов с изолированной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени/глухотой, врожденной или возникшей в раннем возрасте, как наиболее адекватной когорты для оценки генетической компоненты в этиологии потери слуха.
2. Выявление, с помощью ресеквенирования по Сэнгеру, полного спектра мутаций и полиморфных вариантов гена *GJB2* (Cx26), наиболее значимого в этиологии наследуемой потери слуха, в сформированной выборке пациентов.
3. Оценка патогенетического вклада мутаций гена *GJB2* (Cx26), определяемого присутствием у пациента биаллельных рецессивных мутаций этого гена, в этиологию нарушений слуха у больных из Республики Тыва.
4. Анализ частоты гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2* в популяционной выборке коренного населения (тувинцев) Республики Тыва.
5. Получение и анализ социо-демографических характеристик (уровень брачности, особенности брачной структуры, параметры репродукции) и степени социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва.

Научная новизна исследования

Впервые в Республике Тыва создана единая база данных о больных с различными формами тугоухости/глухоты и проведен эпидемиологический анализ нарушений слуха различной этиологии, в том числе тугоухости / глухоты, возможно, обусловленной генетическими факторами, и получены данные о их распространенности по территории Республики Тыва. Впервые проведено молекулярно-генетическое изучение наследственной несиндромальной потери слуха, в результате которого получена оценка патогенетического вклада мутаций гена *GJB2* (Cx26) в развитие наследственных форм глухоты у коренного населения Республики Тыва,

охарактеризован спектр мутаций гена *GJB2* и определена их частота у больных с потерей слуха. Установлена частота гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2* в популяции тувинцев. Впервые в Республике Тыва получены социо-демографические характеристики сообщества глухих людей и проведено изучение особенностей брачной структуры, параметров репродукции и степени социальной адаптации людей с тяжелой степенью потери слуха.

Научно-практическая ценность

Анализ единой информационной базы данных о больных с различными формами тугоухости/глухоты в Республике Тыва, созданной в настоящей работе, позволил определить, что около 70% больных имеют тяжелые (социально-значимые) формы потери слуха и нуждаются в разносторонней медико-социальной реабилитации. Результаты поиска патогенетических мутаций гена *GJB2* могут быть использованы в постановке диагноза у пациентов с потерей слуха, медико-генетического консультированияотягощенных патологией семей и разработки оптимального для Республики Тыва алгоритма молекулярно-генетической диагностики случаев наследуемой потери слуха. Результаты, полученные при исследовании спектра и распространенности мутаций и полиморфных вариантов гена *GJB2* у тувинцев, вносят весомый вклад в характеристику генетической структуры коренного населения Республики Тыва. Социо-демографические характеристики сообщества глухих людей в Республике Тыва, полученные в настоящей работе, в совокупности со знаниями о патогенетическом вкладе мутаций гена *GJB2* в этиологию наследуемых форм потери слуха, могут быть использованы при прогнозировании распространенности наследственных форм потери слуха в изучаемом регионе.

Основные положения, выносимые на защиту

- 1) Средняя распространенность тугоухости/глухоты различной этиологии составляет 1 : 220 чел., средняя распространенность нейросенсорной тугоухости III-IV степени/глухоты, вероятно обусловленной генетическими факторами - 1 : 573 чел. с широкой вариацией этих показателей по районам Республики Тыва.
- 2) Генетическая компонента в этиологии наследуемой потери слуха у тувинцев, определяемая присутствием биаллельных рецессивных мутаций гена *GJB2* (Cx26), составляет 18.8%, и этот показатель является минимальной оценкой, т.к. есть свидетельства присутствия других, пока неустановленных, генов, ассоциированных с патологией слуха у населения Тувы. Рецессивная мутация p.W172C (c.516G>C) гена *GJB2* (Cx26) является мажорной у тувинских больных.
- 3) Популяционная выборка тувинцев характеризуется высокой частотой (11.57%) гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2*.
- 4) Брачная структура глухих людей в среднем по Республике Тыва характеризуется относительно высокой ассортативностью: доля браков между глухими людьми составляет 64.5% при статистически значимых различиях между городским (70.9%) и сельским населением (57.7%) ($p=0.036$). Выявлена тенденция к снижению среднего числа детей в ассортативных браках между глухими людьми (2.14 ± 0.0) по сравнению с браками, в которых только один из брачных партнеров с потерей слуха (2.50 ± 0.16).

Апробация результатов

Результаты данной работы были представлены на: II-ой Всероссийской конференции по редким заболеваниям и редко применяемым медицинским технологиям «Дорога жизни» с международным участием (Санкт-Петербург, 2011г.); III-ей Международной научно-практической конференции

«Биоразнообразие и сохранение генофонда флоры, фауны и народонаселения Центрально-Азиатского региона» (Кызыл, 2011г.); Международной конференции «Проблемы популяционной и общей генетики», посвященной памятной дате - 75-летию академика Ю.П. Алтухова (Москва, 2011г.); европейских конференциях генетиков человека (Нюрнберг, Германия, 2012г.; Париж, Франция, 2013г.; Милан, Италия, 2014г.); 8-ой международной конференции «Биоинформатика и системная биология» (BGRS) (Новосибирск, 2012г.); научной конференции «Фундаментальные науки – медицине», посвященной 10-летию Медицинского факультета (Новосибирск, 2013г.); VI Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Ростов-на-Дону, 2014г.); VII Съезде Российского общества медицинских генетиков (Санкт-Петербург, 2015г.); II-ой международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы», посвященный 50-летию ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» (Минск, Республика Беларусь, 2015г.).

Публикации

Материалы диссертации представлены в 18 публикациях, в том числе в 4-х статьях, опубликованных в реферируемых журналах перечня ВАК РФ, рекомендованных для защиты кандидатских диссертаций.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, который включает 151 источник. Проиллюстрирована 11 таблицами, 11 рисунками и 3 приложениями на 12 страницах. Общий объем составляет 141 страницу.

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю О.Л. Посух за руководство, поддержку и всестороннюю помощь в выполнении и написании работы. Автор выражает искреннюю благодарность аспирантам Зыцарь М.В. и Михальской В.Ю. за помощь в выполнении и анализе результатов молекулярно-генетической части работы. Автор выражает признательность Зоркольцевой И.В. за методическую помощь при статистическом анализе результатов работы. Автор выражает благодарность врачам медико-генетической консультации Перинатального центра Республики Тыва Омзар О.С., Санчат Н.О. и Тукар В.М. за оказанную поддержку на всем протяжении выполнения работы.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Нарушения слуха, обусловленные средовыми или генетическими причинами, затрагивают значительную часть населения, приводят к инвалидности и существенно снижают качество жизни больных, что, безусловно, делает эту патологию социально значимой проблемой. В данном обзоре будут кратко рассмотрены этиологические факторы различных форм нарушений слуха, с выделением генетически обусловленной потери слуха, обусловленной мутациями в гене *GJB2*, кодирующем коннексин 26 (Cx26), который имеет наибольший патогенетический вклад в развитие несиндромальной нейросенсорной тугоухости/глухоты (ННТ/Г). Распространенность мутаций гена *GJB2* в популяциях мира характеризуется этно-географической специфичностью. Кроме того, будет представлен краткий обзор работ, касающихся эпидемиологических и молекулярно-генетических исследований нарушений слуха, проведенных в России.

В многочисленных исследованиях было показано, что на распространенность некоторых форм наследственной глухоты могли повлиять, помимо генетических факторов, определяющих динамику структуры популяций, и некоторые социально-демографические факторы - существующая в ряде регионов мира долговременная традиция заключения ассортативных браков между глухими людьми (выбор брачного партнера по патологическому фенотипу), рост их социальной адаптации и повышение биологической приспособленности [Nance et al., 2000; Nance, 2003; Nance, Kearsey, 2004]. В этой связи, приводится обзор публикаций, связанных с изучением социальных аспектов наследственной глухоты.

Поскольку данное исследование направлено на изучение наследуемой патологии слуха в Республике Тыва, в обзоре также приводятся сведения об этнической истории тувинцев и обсуждаются проведенные ранее популяционные и медико-генетические исследования популяции тувинцев.

1.1. Этиология и типы нарушений слуха

Рутинное отоскопическое и аудиологическое исследование позволяет определить тип (кондуктивный, нейросенсорный, смешанный) и степень потери слуха. Кондуктивный тип потери слуха обусловлен повреждением, дисфункцией или недоразвитием звукопроводящих структур органа слуха (наружное и среднее ухо). Нарушения механизмов восприятия звука во внутреннем отделе органа слуха и слуховых нервах приводят к нейросенсорному типу потери слуха. Подавляющее число генетических форм потери слуха относится к нейросенсорному типу. При смешанном типе - выявляются нарушения в звукопроводящих и звуковоспринимающих отделах органа (рисунок 1). Согласно международной классификации [Genetic Evaluation of Congenital Hearing Loss Expert Panel, 2002; Таварткиладзе и др., 2006], на основании средних значений порогов слышимости (дБ, децибелы) на речевых частотах (0.5, 1, 2, 4 кГц) различают несколько степеней потери слуха: I степень (легкая тугоухость) - 26-40 дБ, II степень (умеренная тугоухость) - 41-55 дБ, III степень (выраженная тугоухость) - 56-70 дБ, IV степень (тяжелая тугоухость) – 71-90 дБ, глухота - > 91 дБ.

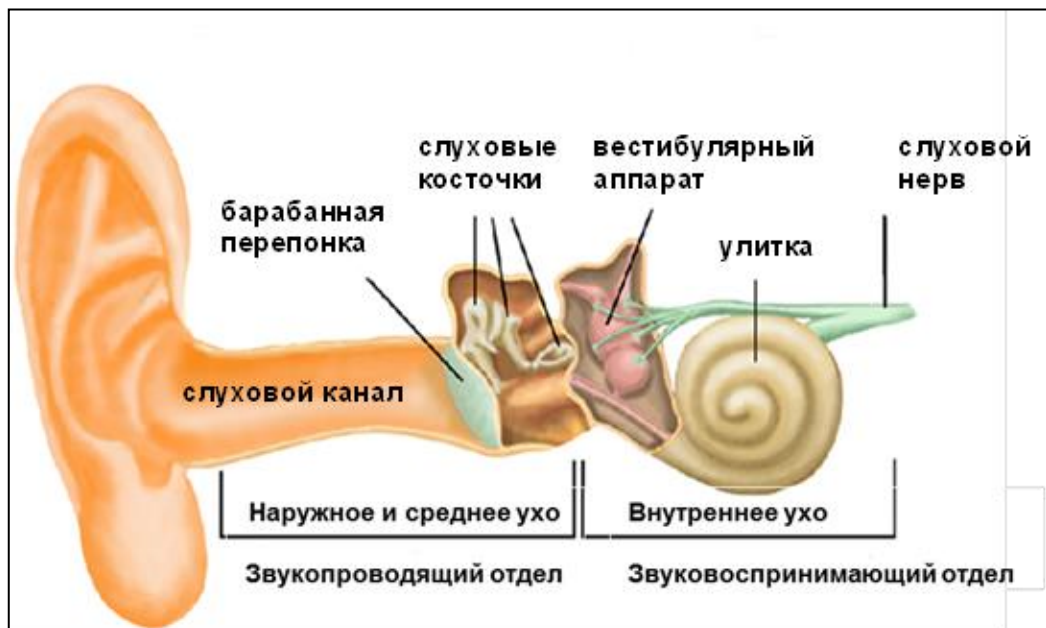


Рисунок 1. Строение отделов органа слуха.

Информативными являются также характер полученных кривых на аудиограммах, возраст манифестации и прогрессия заболевания. Нарушения слуха могут быть врожденными, возникнуть в раннем детском возрасте или же проявиться позднее, могут быть стабильными или прогрессирующими.

Изучение анамнеза и родословной больного с врожденной (или раннего проявления) потерей слуха в ряде случаев позволяет выдвинуть предположение о возможных средовых факторах риска, связанных как с болезнью матери или патологиями беременности и родов (токсикозы, инфекционные и вирусные заболевания во время беременности - краснуха, грипп, цитомегаловирусная инфекция, герпес, токсоплазмоз), так и ребенка (асфиксия и гемолитическая болезнь новорожденного, внутричерепная родовая травма, гипербилирубинемия, низкая масса тела при рождении, недоношенность, прием ототоксических препаратов и др.), либо (при наличии родственников с потерей слуха) отнести больного в группу генетического риска.

1.2. Генетические формы потери слуха

В настоящее время известно, что 1 из 700-1000 новорожденных рождается глухим и примерно в половине и более случаев потеря слуха у ребенка имеет генетическую этиологию [Marazita et al., 1993; Morton, 1991; Morton, Nance, 2006]. Таким образом, частота наследственной (генетически обусловленной) потери слуха тяжелой степени или глухоты составляет не менее 1:1500-2000 новорожденных, что превышает частоты моногенных заболеваний, включенных в национальную программу массового неонатального скрининга, проводимого в России (фенилкетонурия ~ 1:10000, врожденный гипотиреоз ~ 1:4000-5000, галактоземия ~ 1:15000-20000, муковисцидоз ~ 1:3000-6000, адреногенитальный синдром ~ 1:5000-15000).

Отличительной особенностью наследуемой потери слуха является ее существенная клиническая и генетическая гетерогенность. Примерно в 30%

случаев потеря слуха является одним из клинических признаков большого числа (несколько сотен) синдромов [Gorlin et al., 1995], в 70% - потеря слуха является изолированной (несиндромальной) моногенной патологией.

К настоящему времени с несиндромальной потерей слуха ассоциировано около 140 генетических локусов и идентифицировано ~ 90 генов [Van Camp, Smith, 2015]. Таким образом, слух может быть нарушен в результате дефектов функционирования множества различных генов, продукты которых участвуют в тщательно скоординированных процессах звуковосприятия.

Изолированная (несиндромальная) потеря слуха отличается и многообразием форм наследования. Около 75-80% всех случаев несиндромальной наследственной глухоты приходится на аутосомно-рецессивные формы, ~ 10-15% - на аутосомно-доминантные и несколько процентов - на формы глухоты, сцепленные с X-хромосомой либо обусловленные мутациями митохондриальной ДНК [Petersen, 2002; Petersen, Willems, 2006; Kokotas et al., 2007; Petersen et al., 2008; Van Camp, Smith, 2015; MITOMAP: <http://www.mitomap.org.>, 2015].

Название локусов, ассоциированных с несиндромальной потерей слуха, происходит от DeaFNess (глухота): DFNA – аутосомно-доминантное наследование, DFNB – аутосомно-рецессивное наследование, DFNX – сцепленное с X-хромосомой, DFNM – локус с генами-модификаторами, причем в некоторых локусах могут находиться гены, имеющие как доминантные, так и рецессивные мутации [Van Camp, Smith, 2015].

Наибольшую диагностическую значимость имеют мутации в генах *GJB2* (коннексин 26) и *GJB6* (коннексин 30), расположенные в локусе DFNB1 (13q11-q12), а также в нескольких других генах (*SLC26A4*, *SLC26A5*, *MYO7A*, *MYO6*, *MYO15*, *OTOF* и др.) и ряд мутаций мтДНК. Известно, что некоторые мутации мтДНК вызывают потерю слуха после терапии антибиотиками из класса аминогликозидов, поэтому своевременное выявление этих мутаций

имеет принципиальное значение для подбора антибактериальной терапии [Kokotas et al., 2007].

В многочисленных исследованиях было показано, что, как и для многих других моногенных заболеваний, накопление определенных генетических форм потери слуха в том или ином регионе может определяться такими факторами, как этнический состав населения, изоляция, доля близкородственных браков, эффекты основателя и «бутылочного горлышка» [Groce, 1985; Scott et al., 1995; Winata et al., 1995; Van Laer et al., 2001; RamShankar et al., 2003; Ben Arab et al., 2004; Lezirovitz et al., 2008; Sirmaci., 2009; Barashkov et al., 2011 и др.].

1.3. Ген *GJB2*, кодирующий трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26)

Наиболее частой причиной несиндромальной аутосомно-рецессивной глухоты у человека (DFNB1A, MIM 220290) являются мутации в гене *GJB2* (*gap junction protein, beta 2*, MIM 121011, 13q11-q12). Ген *GJB2*, размером в 7004 п.н., состоит из двух экзонов, но белок-кодирующим является только 2-ой экзон [Kiang et al., 1997]. Ген *GJB2* кодирует трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26, MIM 121011, 26 kDa, 226 аминокислот). Шесть молекул коннексина 26 образуют особые структуры - коннексоны, формирующие межклеточные щелевые каналы, по которым в тканях внутреннего уха обеспечивается ионный (K^+ и другие малые молекулы) обмен между соседними клетками, и, тем самым, поддерживается ионный гомеостаз эндолимфы в тканях улитки. Поддержание ионного гомеостаза эндолимфы в тканях внутреннего уха необходимо для нормального процесса звуковосприятия. Тонкая кристаллическая структура коннексиновых каналов была показана относительно недавно [Maeda et al., 2009] (рисунок 2). При нарушениях структуры коннексина 26, вызванных мутациями в гене *GJB2*, не

происходит восстановления ионного гомеостаза эндолимфы, что приводит к необратимой потере слуха [Kikuchi et al., 1995].

В большинстве европейских стран мутации гена *GJB2* (Cx26) являются причиной врожденной несиндромальной нейросенсорной тугоухости / глухоты у 50-60% больных, в азиатских популяциях вклад *GJB2*-мутаций несколько меньше - 10-20% [Gasparini et al., 2000; Liu et al., 2002; Yuan et al., 2009; Tekin et al., 2010]. К настоящему времени известно более 300 вариаций последовательности гена *GJB2* (мутации, полиморфные и пока еще неклассифицированные варианты) [Ballana et al., 2014; Stenson et al., 2014].

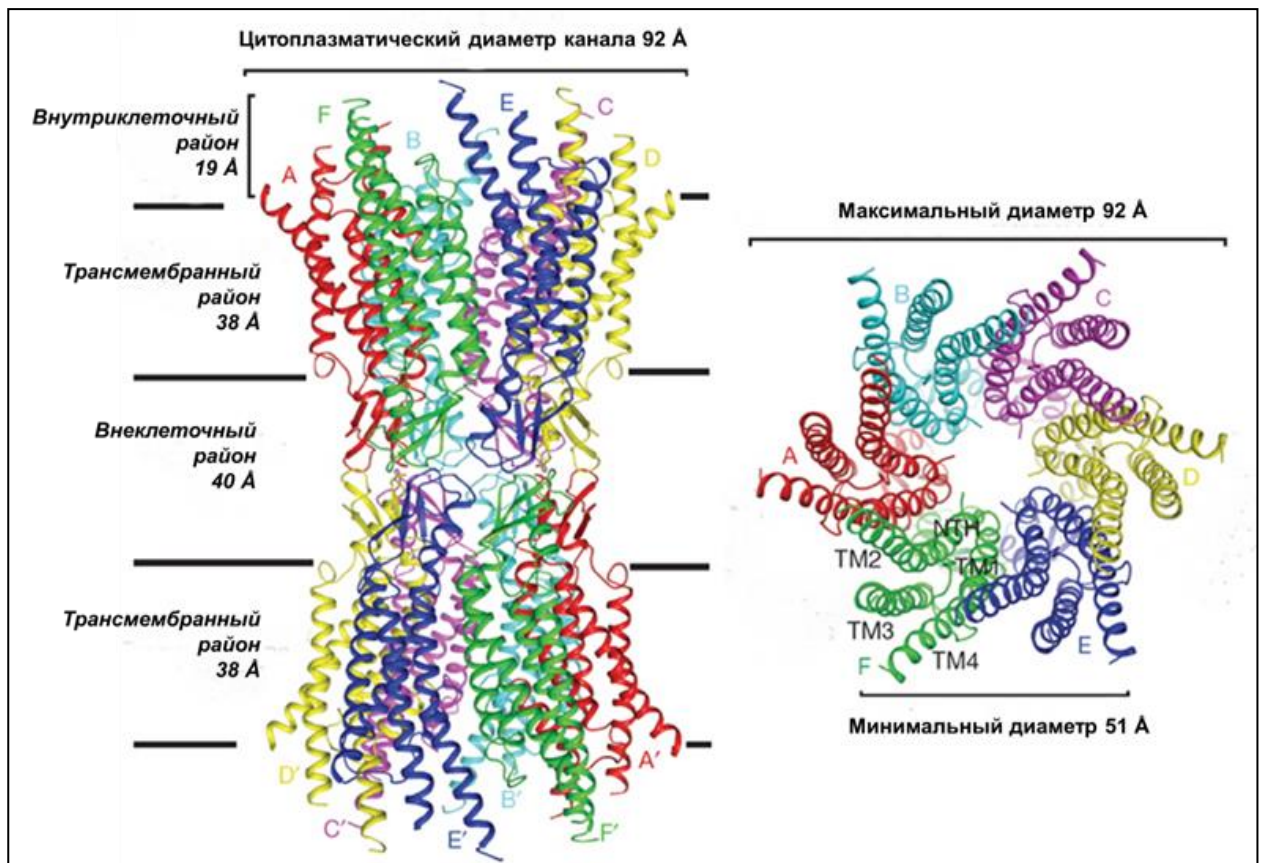


Рисунок 2. Структура межклеточного канала, образованного молекулами коннексина 26. А, В, С, D, F, Е и А', В', С', D', F', Е' - молекулы коннексина 26 в коннексах соседних клеток; ТМ 1-4 – трансмембранные сегменты белка Сх26; NTH – N-терминальная спираль белка Сх26. Рисунок адаптирован из [Maeda et al., 2009] на основе разрешения от “Macmillan Publishers Ltd”.

1.4. Частота встречаемости и спектр мутаций гена *GJB2*

Частота встречаемости и спектр мутаций гена *GJB2* различаются в популяциях разного этнического происхождения и в разных регионах мира. Идентифицировано несколько «главных», мажорных, мутаций этого гена, преобладающих в той или иной популяции, другие *GJB2*-мутации обнаруживались только у отдельных глухих пациентов. Мутационный спектр гена *GJB2* с наиболее часто встречающимися мутациями представлен на рисунке 3.

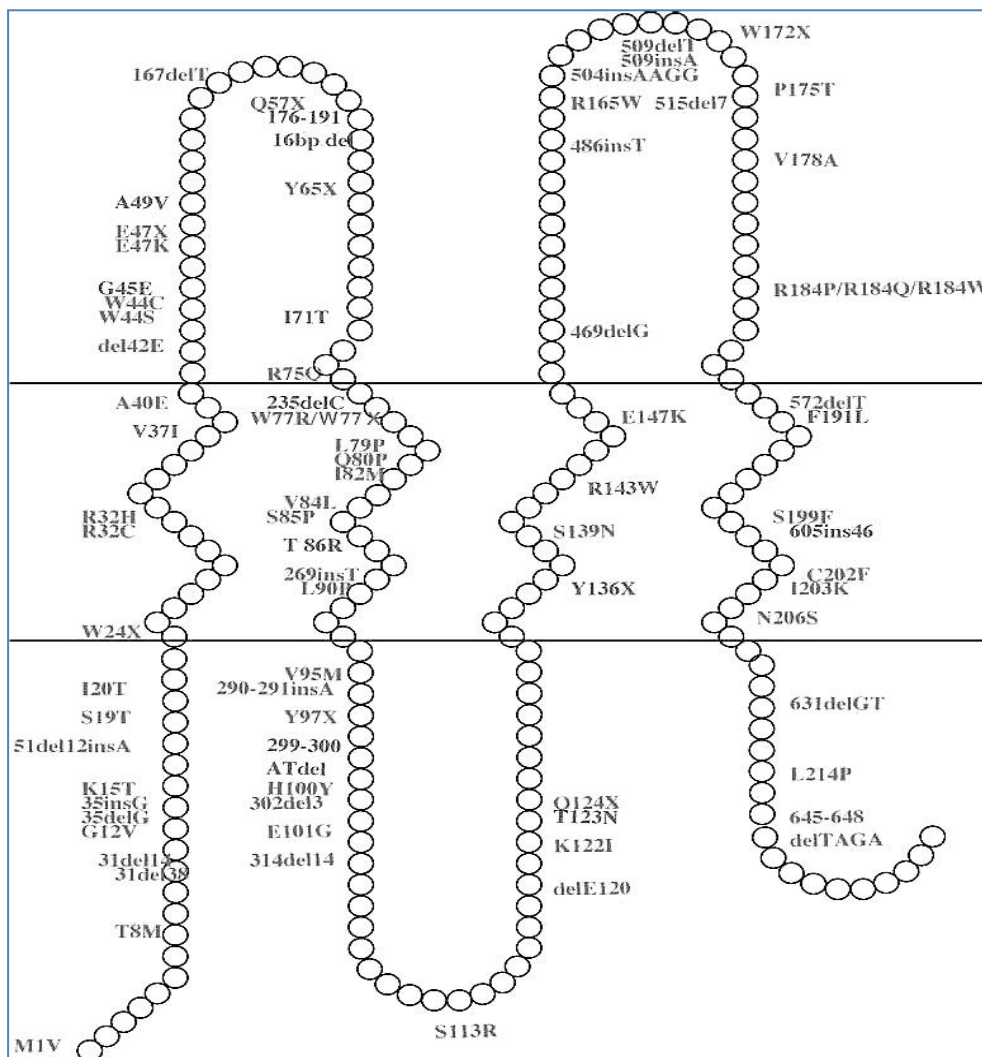


Рисунок 3. Схематическое изображение структуры коннексина 26 (Cx26) с наиболее частыми мутациями и полиморфными вариантами гена *GJB2*. Рисунок модифицирован из [Ohtsuka et al., 2003].

Этническая и территориальная специфичность мутационного спектра гена *GJB2* и широкая распространенность отдельных мутаций этого гена в различных регионах мира обусловлена в ряде случаев эффектом основателя, и, вероятно, географической и социальной изоляцией некоторых популяций. Так, мутация с.35delG широко распространена в популяциях европейского происхождения [Gasparini et al., 2000], мутация с.235delC - часто встречается в ряде азиатских стран [Dai et al., 2009; Liu et al., 2002; Ohtsuka et al., 2003; Park et al., 2000], с.167delT - у евреев ашкенази [Morell et al., 1998], p.R143W - в некоторых популяциях Западной Африки [Brobby et al., 1998; Hamelmann et al., 2001], p.V37I характерна для Юго-Восточной Азии [Wattanasirichaigoon et al., 2004], p.W24X широко распространена в Индии [Ramchander et al., 2005], мутация сайта сплайсинга IVS1+1G>A, редкая в других регионах мира, превалирует в Республике Саха (Якутия) [Varashkov et al., 2011].

Высокая распространённость отдельных мутаций гена *GJB2* в различных популяциях может либо свидетельствовать о независимом возникновении мутаций на различных территориях (mutational hot spot), либо являться эффектом основателя (founder mutation). Впервые, гипотеза о роли эффекта основателя в распространенности *GJB2*-мутаций была доказана при помощи анализа гаплотипов участка хромосомы 13 с мутацией с.35delG у европеоидного населения (бельгийцы, британцы и белые американцы), в результате которого была показана общность гаплотипов с этой мутацией [Van Laer et al., 2001]. Кроме того, в пользу гипотезы основателя для данной мутации свидетельствовал тот факт, что мутация с.35delG отсутствует или имеет низкую частоту в других этнических группах, например, в азиатских популяциях, что опровергает роль мутационных «горячих точек» (mutational hot spot) в ее распространенности. С другой стороны, нельзя было исключить, что мутации с.35delG возникала более чем один раз [Van Laer et al., 2001]. На настоящий момент, считается общепризнанной гипотеза о том, что с.35delG впервые возникла 10000-14000 лет назад на территории Ближнего Востока и Средиземноморья и распространилась по территории

Европы с неолитическими миграциями человека [Kokotas et al., 2008; Kokotas et al., 2010; Najmabadi et al., 2002; Джемилева и др., 2011a]. Анализ гаплотипов хромосом, несущих другую *GJB2*-мутацию – с.235delC, в популяциях Японии, Кореи, Китая и Монголии также позволил выдвинуть гипотезу об эффекте основателя в происхождении и распространенности этой мутации на территории Восточной Азии. Был примерно оценён ее «возраст» (~ 11500 лет) и выдвинуто предположение о ее возникновении в регионе озера Байкал, откуда путем последовательных миграций она распространилась по территории Азии [Yan et al., 2003]. Получены также оценки «возраста» мутации p.W24X, широко распространенной в Индии - ~ 7880 лет [Ramshankar et al., 2003]. Группой из Якутского научного центра комплексных медицинских проблем СО РАМН была показана роль эффекта основателя в распространении мутации IVS1+1G>A у коренного населения в Республике Саха (Якутия). Предположительно эта мутация появилась на территории Якутии около 800 лет назад и, возможно, была привнесена тюркоязычными предками якутов, мигрировавшими из более южных регионов Сибири [Varashkov et al., 2011].

1.5. Эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования наследуемых форм потери слуха в России

В России, исследования эпидемиологии наследуемых форм тугоухости проводились в рамках комплексного медико- и популяционно-генетического обследования населения некоторых регионов преимущественно европейской части страны и нескольких популяций Сибири (Томская область, Республики Алтай и Якутия) [Пузырев, Назаренко, 2000; Зинченко и др., 2003, Тарская и др., 2004; Салюкова и др., 2004; Шокарев и др., 2005; Зинченко и др., 2007; Маркова, 2008; Зинченко и др., 2009а, б; Зинченко и др., 2012а, б]. Результаты проведенных исследований показали, что несиндромальные (изолированные) формы наследственной глухоты являются одними из частых

регистрируемых патологий в общем грузе наследственных и врожденных заболеваний [Зинченко и др., 2003, Тарская и др., 2004; Шокарев и др., 2005; Зинченко и др., 2007; Маркова, 2008; Зинченко и др., 2009а, б; Зинченко и др., 2012а, б]. На основании клинико-генеалогических данных и классического сегрегационного анализа, примененного в этих работах, было показано, что наибольшая частота случаев несиндромальных форм нарушений слуха приходится на аутосомно-рецессивную нейросенсорную тугоухость/глухоту (ННТ/Г), распространенность которой в некоторых популяциях достигает 80% из всех наследуемых форм тугоухости/глухоты. Значительные территориальные различия в распространенности ННТ/Г были показаны не только по отдельным районам обследуемых регионов, но и между регионами, которые, вероятно, были обусловлены локализацией коррекционных школ в регионах, а также особенностями генетической структуры исследованных популяций и действием дрейфа генов [Зинченко и др., 2003, Шокарев и др., 2005; Зинченко и др., 2007; Маркова, 2008, Зинченко и др., 2009а, б; Зинченко и др., 2012а, б].

В связи с тем, что мутации гена *GJB2* (Сх26) являются наиболее важной причиной наследственных несиндромальных форм глухоты, во многих странах разработана и успешно применяется молекулярно-генетическая диагностика случаев тугоухости/глухоты, основанная на выявлении у больных мутаций этого гена. В первую очередь, производится скрининг мутации с.35delG, которая является основной причиной потери слуха в европейских странах. В России, до недавнего времени, молекулярная диагностика ННТ/Г ограничивалась скринингом только этой мутации [Журавский и др., 2009; Зинченко и др., 2003; Маркова и др., 2002; Маркова и др., 2008; Некрасова и др., 2002; Хидиятова и др., 2002; Шаронова и др., 2009; Шокарев и др., 2005]. Такой подход, с учетом этнической и географической специфичности мутационного спектра гена *GJB2*, вряд ли может быть адекватной диагностической методологией в применении ко всему многонациональному населению России.

В последние годы, с внедрением в молекулярную диагностику метода секвенирования ДНК, стало возможным выявление более широкого мутационного спектра гена *GJB2* и для ряда российских популяций было показано, что доля пациентов с потерей слуха, обусловленной мутациями гена *GJB2* (варьируя в зависимости от региона исследования), может достигать более 50% [Posukh et al., 2005; Джемилева, 2011б; Осетрова и др., 2010; Божкова и др., 2011; Близнец и др., 2012; Пшенникова и др., 2015]. Так, в работе [Джемилева, 2011б] на выборке из 390 больных (204 семьи) с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью в Республике Башкортостан была выявлена превалирующая роль мутации с.35delG гена *GJB2* - в среднем, 34% и ее частота существенно различалась в разных этнических группах: у русских - 43%, у татар - 27% и среди башкир - 13%. Всего у больных с нейросенсорной тугоухостью в Республике Башкортостан методом ресеквенирования ДНК в гене *GJB2* было идентифицировано около 20 мутаций, имеющих различную частоту [Джемилева, 2011б]. Изучение наследственных нарушений слуха у детского населения Северного Кавказа (Республика Дагестан) в работе [Божкова и др., 2011] в выборке, включающей 35 детей (24 семьи) с ННТ/Г, позволило оценить патогенетический вклад мутаций гена *GJB2*, который составил 34%. Всего было найдено 19 различных *GJB2*-мутаций и самыми распространенными из них оказались мутации с.35delG и IVS1+1G>A с аллельной частотой 42% и 37%, соответственно [Божкова и др., 2011]. В результате многолетней работы [Близнец и др., 2012] по молекулярно-генетической диагностике наследственной несиндромальной тугоухости у российских пациентов из различных регионов страны (705 больных) было выявлено 20 мутаций в гене *GJB2*, среди которых шесть наиболее частых (с.35delG, с.313_326del14, IVS1+1G>A, с.235delC, с.167delT и p.Glu120del) составили 95% всех обнаруженных мутантных аллелей гена *GJB2*, причем аллельная частота мутации с.35delG среди всех мутантных *GJB2*-аллелей достигала 81%. Общий вклад «*GJB2*-тугоухости» в этой группе пациентов оказался равен

46% [Близнец и др., 2012]. В Республике Саха (Якутия) [Пшенникова и др., 2015], с использованием метода полного ресеквенирования промоторной и белок-кодирующей областей гена *GJB2*, была проведена работа по анализу спектра и частоты мутаций гена *GJB2* на масштабной выборке больных с ННТ/Г, включающей 393 чел. (363 семей). У 192 из 393 обследованных пациентов были обнаружены генотипы с биаллельными рецессивными мутациями гена *GJB2* (в гомозиготном или в компаунд-гетерозиготном состоянии). Патогенетический вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха у населения Республики Саха (Якутия) составил, в целом, 48.9% (а у пациентов якутов - 53.0%) [Пшенникова и др., 2015] и эти оценки в настоящее время являются максимальными среди всех ранее изученных регионов Азии [Abe et al., 2000; Kudo et al., 2000; Liu et al., 2002; RamShankar et al., 2003; Posukh et al., 2005; Dai et al., 2009; Mani et al., 2009; Tekin et al., 2010; Tsukada et al., 2010; Zainal et al., 2012]. Спектр рецессивных мутаций гена *GJB2* у пациентов якутов с ННТ/Г ограничен тремя мутациями (IVS1+1G>A, c.35delG и p.V37I), и самой частой из них оказалась мутация IVS1+1G>A (93.6% всех мутантных хромосом), у русских пациентов спектр мутаций был шире и представлен пятью различными *GJB2*-мутациями (c.35delG, IVS1+1G>A, c.311_324del14, c.333_334delAA, c.167delT) и наиболее частой среди них была мутация c.35delG (61.8% всех мутантных хромосом) [Пшенникова и др., 2015].

Важную оценку отягощенности населения России рецессивными мутациями гена *GJB2* дают исследования по изучению частоты их гетерозиготного носительства на популяционных выборках людей с нормальным слухом. Анализ частоты гетерозиготного носительства наиболее распространенных мутаций гена *GJB2* в различных популяциях России был проведен в ряде работ [Posukh et al., 2005; Dzhemileva et al., 2010; Близнец и др., 2012; Пшенникова и др., 2015 и др.]. Так, в популяциях Волго-Уральского региона частоты гетерозиготного носительства мажорных *GJB2*-мутаций c.35delG, c.167delT и c.235delC составили, в среднем, 1.29%, 0.3% и 0.1%, соответственно

[Джемилева и др., 2010]. В Республике Саха (Якутия) суммарная частота гетерозиготного носительства частых у якутов рецессивных мутаций IVS1+1G>A и p.V37I - 0.112 [Пшенникова и др., 2015]. Полученная в работе [Близнец и др., 2012], частота гетерозиготного носительства мутации c.35delG в контрольной российской выборке равна 5%, а общая частота носительства *GJB2*-мутаций - 6% [Близнец и др., 2012]. Частота гетерозиготного носительства мутации c.235delC у алтайцев (Республика Алтай) составила 4.6% [Posukh et al., 2005].

Информация о частоте и распространенности гетерозиготного носительства наиболее частых рецессивных мутаций гена *GJB2* имеет важное значение для оценки степени отягощенности разных этнических групп населения мутациями гена *GJB2* и разработки оптимальных методов диагностики нарушений слуха, связанных с «коннексиновой» глухотой.

1.6. Социальные аспекты изучения наследуемых форм потери слуха

Этнический состав населения, изоляция, доля близкородственных браков, эффекты основателя и «бутылочного горлышка» могут определять специфику распространенности определенных форм генетической потери слуха в том или ином регионе [Groce, 1985; Scott et al., 1995; Winata et al., 1995; Van Laer et al., 2001; RamShankar et al., 2003; Ben Arab et al., 2004; Lezirovitz et al., 2008; Sirmaci et al., 2009; Varashkov et al., 2011 и др.]. Но для глухоты, обусловленной мутациями гена *GJB2*, была предложена гипотеза о том, что на широкую распространенность этой наследственной патологии, в отличие от большинства моногенных заболеваний, могли повлиять и определенные социальные факторы: существующая в ряде регионов мира долговременная традиция заключения ассортативных браков между глухими людьми (выбор брачного партнера по патологическому фенотипу), в сочетании с ростом их социальной адаптации и биологической

приспособленности (genetic fitness) [Nance et al., 2000; Nance, 2003; Nance, Kearsey, 2004].

В прошлом, потеря слуха, нарушая возможность восприятия предупреждающей и тревожной информации, ориентации и социальной коммуникации, резко снижала биологическую приспособленность глухого человека, и доля случаев с генетически детерминируемой потерей слуха была сравнительно невелика.

В настоящее время, по крайней мере, в ряде стран Европы и США, наблюдается отчетливая тенденция к неуклонному росту «генетической глухоты», обусловленной мутациями в гене *GJB2* (Cx26) [Morton, Nance, 2006]. Компьютерное имитационное моделирование показало, что в США число индивидуумов с глухотой, обусловленной рецессивными мутациями этого гена, могло бы увеличиться в два раза за 200 лет, при росте доли ассортативных браков между глухими от 0 до 0.9 и возрастании их биологической приспособленности от 0 до 1 [Nance, Kearsey, 2004]. Предполагается, что толчком для этих процессов послужило создание школ для глухих около 300 лет назад в ряде европейских стран (и, несколько позднее, - в США) [Bender, 1981] и последующее активное развитие на их базе жестового языка – универсального способа коммуникации между глухими людьми [Nance, Kearsey, 2004].

1.6.1. Сообщества глухих людей - «Deaf Culture»

Единое лингвистическое пространство (жестовый язык) способствовало улучшению условий жизни и консолидации глухих людей. В странах Европы и США это привело к формированию особых микросоциумов “Deaf Culture” («Культура глухих», «Глухой мир») со своим собственным, жестовым, языком, своеобразными традициями и культурой [Padden, Humphries, 1988; Andersson, 1991; Arnos et al., 1991; Christiansen, 1991; Ruben, 1991; Prezioso, 1995; Stern et al., 2002 и др.]. В этих сообществах отсутствие слуха рассматривается в социокультурном аспекте, а не как

отклонение от нормы. Самоопределение глухих людей, относящих себя к «Deaf Culture», выражается, в частности, в написании слова «deaf» (глухой) с большой буквы – «Deaf» [Arnos et al., 1991]. Важными социально-демографическими характеристиками этих микросоциумов являются высокая доля ассортативных браков между глухими партнерами, основанная на лингвистической гомогамии (жестовый язык), и, как показано в некоторых исследованиях, позитивное отношение глухих супругов к рождению глухих детей [Middleton et al., 1998; 2001; Stern et al., 2002].

1.6.2. Брачная структура глухих людей

Вероятно благодаря улучшающейся социальной адаптации и консолидации глухих людей, владеющих жестовым языком, во многих регионах Европы и США наблюдается отчетливая тенденция к увеличению доли ассортативных браков между глухими [Schein, Delk, 1974; Rose, 1975; Arnos et al., 2008; Blanton et al., 2010].

Одним из относительно немногочисленных комплексных исследований социо-демографических характеристик сообществ глухих людей в Европе является работа [Carlsson et al, 2004/2005], в которой был проведен сравнительный анализ двух наиболее крупных сообществ глухих людей Швеции, проживающих в двух округах Narke и Varmland [Carlsson et al., 2004/2005]. Эти округа, сходные по основным демографическим характеристикам (общей численности, числу взрослых людей), отличаются по уровню «развития» сообщества глухих людей. В округе Narke в местной ассоциации глухих людей зарегистрировано 450 человек и 82% из них сосредоточено в крупном городе Örebro, тогда как в округе Varmland в ассоциацию глухих людей входит около 100 человек и только 33% живет в городе Karlstad, а остальные рассредоточены по всему округу. В округе Narke обучение глухих детей возможно с дошкольного и до высшего образования и здесь отмечается самое большое в Швеции число глухих студентов, обучающихся в университете. В округе Varmland условия обучения глухих

детей ограничены дошкольным образованием. Таким образом, в округе Narke имеется хорошо развитая социальная инфраструктура для глухих людей, уровень консолидации которых существенно выше, чем в округе Varmland. При практически равных уровнях брачности (37.1% глухих людей состояло в браке в Narke и 35.1% - в Varmland), были выявлены контрастные уровни брачной ассортативности: в округе Narke, где 99% глухих людей имели глухого брачного партнера, а в округе Varmland зафиксировано только 10% таких браков [Carlsson et al., 2004/2005].

В работе [Blanton et al., 2010], где анализировались данные о выпускниках старейшего в США крупного образовательного учреждения для глухих (Gallaudet University), сообщается о высоком уровне брачности глухих людей (0.88), сходным с таковым у их нормально слышащих братьев / сестер (0.89), а доля браков между глухими людьми (ассортативные браки) составила 79% [Blanton et al., 2010]. Национальная перепись глухих, проведенная в США в 1970г. (The 1970 National Census of the Deaf Population), зафиксировала 80-90%-ный уровень брачной ассортативности глухих людей, что соответствует данным из других источников [Rapin, 1978; Schein, 1978], таким образом, наблюдается определенный рост этого показателя по сравнению с аналогичными данными, полученными в начале XIX-го века (75%) [Schein, Delk, 1974; Rose, 1975].

Существенно более низкий уровень брачной ассортативности между глухими людьми был выявлен в немногочисленных исследованиях, проведенных в других регионах мира [Chaabani et al., 1995; Tekin et al., 2007, 2010]. Так, в Тунисе частота ассортативных браков между глухими составляет 10-30% [Chaabani et al., 1995], в Турции - 46.8% [Tekin et al., 2007], в Монголии - 37.5% [Tekin et al., 2010].

Частота «генетической глухоты», обусловленной мутациями гена *GJB2* (Cx26), коррелирующая с уровнем брачной ассортативности глухих людей в Европе и США, может достигать 40-50% [Nance, 2003; Morton, Nance, 2006]. Вклад мутаций гена *GJB2* в этиологию потери слуха в ряде азиатских

регионов гораздо ниже, например, у монголов - не более 5%, что, как предполагает [Tekin et al., 2010], вероятно, определяется более низким уровнем консолидации и брачной ассортативности глухих людей в Монголии (37.5%), где изучение жестового языка началось сравнительно недавно [Tekin et al., 2010]. Действительно, первая школа для глухих детей открылась в Улан-Баторе в начале XX века, но жестовый язык оставался примитивным вплоть до 1995г., когда волонтеры Американского корпуса мира (The American Peace Corps) разработали структурированный жестовый язык, адаптированный к монгольскому языку [Tekin et al., 2010]. Косвенные свидетельства отсутствия традиции заключения браков между глухими в Китае были получены при проведении сегрегационного анализа в семьях с глухотой из Шанхая: только в 8 из 260 родительских пар обследованных глухих пробандов оба родителя были глухими [Hu et al., 1987].

1.6.3. Репродукция глухих людей

Параметры репродукции являются важной мерой для оценки биологической приспособленности (genetic fitness) как популяции в целом, так и групп индивидуумов с генетическими заболеваниями. В ряде работ были предприняты попытки оценить параметры репродукции глухих людей (среднее число детей) при сравнении их с таковыми в общей популяции или же с их здоровыми братьями/сестрами [Schein, Delk, 1974; Hu et al., 1987; Liu et al., 2001; Carlsson et al., 2004/2005; Blanton et al., 2010; Tekin et al., 2010]. В исследовании [Blanton et al., 2010] было показано, что среднее число детей у выпускников Gallaudet University (США), состоящих в браке, было значимо меньше (2.06), по сравнению с таким же показателем у их здоровых братьев / сестер (2.26). Но, при рассмотрении типов браков глухих людей выяснилось, что в ассортативных браках между глухими, среднее число детей было выше (2.11), чем в браках между глухим и нормально слышащим партнером (1.85). Тем не менее, общая биологическая приспособленность (genetic fitness) глухих, вне зависимости от их брачного статуса и с учетом бездетных

индивидуумов, оказалась сниженной (0.88) [Blanton et al., 2010]. В работе [Schein, Delk, 1974], основанной на данных переписи глухих в США (1970г.), биологическая приспособленность женщин варьировала от 0.31 до 0.77 (в зависимости от возрастной группы), в сравнении с общей популяцией США [Schein, Delk, 1974]. Анализ параметров репродукции у глухих людей в двух округах Швеции выявил существенно более низкое среднее число детей на женщину (1.16 - в округе Varmland и 1.33 - в округе Narke), по сравнению с общепопуляционными данными для обоих округов (1.63-1.65), причем различия между округами, вероятно, были обусловлены значимым преобладанием бездетных глухих женщин в округе Varmland, по сравнению с Narke (47.3% и 38.5%, соответственно), при популяционной доле бездетных женщин в Varmland - 18.8% и 19.7% - в Narke [Carlsson et al., 2004/2005]. Значительное снижение биологической приспособленности глухих по сравнению с их здоровыми братьями / сестрами было выявлено в двух исследованиях, проведенных в Китае (0.6 и 0.78) [Hu et al., 1987; Liu et al., 2001]. В Монголии относительная биологическая приспособленность глухих людей (вне зависимости от брачного статуса и с учетом бездетных индивидуумов) составила 0.62, при значимо сниженном среднем числе детей у глухих, состоящих в браке (2.7), по сравнению с их слышащими братьями / сестрами (3.6) [Tekin et al., 2010].

Таким образом, несмотря на разные подходы, используемые в немногочисленных исследованиях параметров репродукции глухих людей, было показано, что биологическая приспособленность (genetic fitness) глухих людей, выражаемая в среднем числе детей, варьирует, как и для других человеческих групп, в зависимости от географической локализации, социокультурной и этнической среды, но остается сниженной по сравнению с нормально слышащими индивидами.

1.6.4. Некомплементарные браки

Вероятность рождения глухих детей варьирует в различных вариантах брачных пар с генетическими и негенетическими причинами глухоты. У супругов, чья глухота обусловлена рецессивными мутациями одного и того же гена (некомплементарные браки), могут родиться только глухие дети и с той же самой генетической причиной глухоты. Следовательно, такие браки могут существенно увеличить частоту какой-либо рецессивной мутации, вызывающей глухоту, в последующих поколениях.

В работе [Arnos et al., 2008], выполненной на основе монументального труда «Marriages of the Deaf in America» (Fay, 1898) - уникальной коллекции родословных глухих людей за период 1801-1894гг., и соответствующих данных за период XX-го века, полученных на выпускниках Gallaudet University (США), был проведен сравнительный анализ брачной структуры глухих людей, показавший достоверный рост числа некомплементарных браков за прошедшие 100 лет (4.2% и 23.0%, соответственно) [Arnos et al., 2008]. Кроме того, сравнительный анализ частоты мутаций в гене *GJB2* (Сх26) в когортах больных трех возрастных групп (1921–1940 г.р., 1941–1960 г.р., 1961–1980 г.р.) выявил достоверный рост частоты *GJB2*-мутаций на этом сравнительно коротком временном отрезке (60 лет) [Arnos et al., 2008].

1.7. Тувинцы – коренное население Республики Тыва

Республика Тыва расположена в географическом центре Азии на юге Восточной Сибири и граничит с Монголией, Красноярским краем, Иркутской областью, Республиками Хакасия, Бурятия и Алтай. Общая площадь – 168.6 тыс. кв. км. (рисунок 4). Столица - город Кызыл. Население Тувы - 309347 чел. (по данным Росстата на 2012г.), плотность населения - 1.86 чел./км², удельный вес городского населения - 52%. Этнический состав: тувинцы - 81%, русские - 16%, другие национальности - около 3%. В Республике Тыва – 17 административно-территориальных подразделений (кожуунов).



Рисунок 4. Административно-территориальная карта Республики Тыва.

1.7.1. Исторические и этнографические сведения о тувинцах

Тувинцы - один из древнейших тюркоязычных этносов, населяющих Саяно-Алтайское нагорье. Исторической родиной тувинцев и их предков является территория современной Республики Тыва (Тува). Расположение территории Тувы в географическом центре Азии с древнейших времен накладывало отпечаток на ее отношения с населением соседних и близлежащих регионов и формирование тувинской нации в единый этнос длительное время происходило в условиях отсутствия государственности и постоянной борьбы народа за независимость [Маннай-оол, 2004].

До настоящего времени проблема этногенеза тувинцев принадлежит к числу сложных и малоизученных и многие вопросы, связанные с историей формирования тувинского этноса, остаются нерешенными и спорными, но, тем не менее, имеющийся историко-этнографический материал позволяет

воссоздать относительно целостную картину этапов становления тувинского этногенеза [Маннай-оол, 2004; Вайнштейн, Маннай-оол, 2014].

В конце III тысячелетия до н.э. на территорию Тувы переселились первые мигранты из Восточной Европы - носители так называемой «афанасьевской» культуры [Вайнштейн, Маннай-оол, 2014].

В VIII-III вв до н.э. на территорию Тувы проникают новые этнические группы, которые не только смешались с прежним населением, но и, в значительной мере, вытеснили их. Этот период в литературе описан как скифско-сибирский. Согласно археологическим данным этого периода, в антропологическом отношении, население Тувы в этот период было смешанным европеоидно-монголоидным: существовали территориальные различия в антропологическом типе населения Тувы [Алексеев, 1984]. Так, в западной части Тувы проживали племена с европеоидной внешностью с менее выраженной монголоидной компонентой. Усиление монголоидной компоненты прослеживается от центральной части территории Тувы к южной и восточной. Европеоидный компонент в антропологическом типе тувинцев восходит к еще более древнему населению «афанасьевской» эпохи и раннего скифского периода, а монголоидный имеет центрально-азиатское происхождение. Возможна примесь северно-монгольской компоненты у племен восточной части Тувы, связанной с самодийскими, кетскими и тунгусскими этническими группами, о чем свидетельствуют найденные там топонимические памятники [Кызласов, 1969; Потапов, 1969а; Кызласов, 1979; Сердобов, 1971; Алексеев, 1984; Вайнштейн, Маннай-оол, 2004]. Скифский период характеризуется сложным антропологическим составом населения Тувы на всех этапах его существования и, в зависимости от исторических событий, происходивших в это время в Евразии, соотношение европеоидных и монголоидных компонентов было непостоянным [Чикишева, 2008]. Таким образом, племена, жившие в скифско-сибирский период, приняли участие в начальном этапе этногенеза тувинцев, составив его ядро [Вайнштейн, Маннай-оол 2014].

II в. до н.э. - до V в. н.э. - длительный исторический период на протяжении которого прослеживается появление и постепенное усиление монголоидной компоненты в антропологическом типе местных жителей, которая была на первых этапах на тюркской основе с приходом из Центральной Азии народов – гунны (хунны) и других тюркоязычных и иных этнических групп [Сердобов, 1971; Алексеев, 1984; Маннай-оол, 2004]. Часть древнего населения, вероятно, была вынуждена оставить обжитые места, а оставшиеся группы стали смешиваться с пришлыми племенами, постепенно вобрав их образ жизни, культуру и антропологический облик, становившийся со временем центрально-азиатским типом большой монголоидной расы [Сердобов, 1971; Маннай-оол, 2004; Вайнштейн, Маннай-оол, 2014].

VI-XII вв - процесс усиления тюркизации и этнической консолидации населения Тувы связан с эпохами тюркских каганатов: древнетюркского (VI-VIII вв.), уйгурского (VIII-IX вв.) и древнекыргызского (IX-XII вв), которые оказали существенное влияние на становление тувинского этноса, определили язык, культуру и быт [Вайнштейн, 2014; Кызласов, 1969; Потапов, 1969а; Сердобов, 1971].

Среди основных этнических племенных групп древнетюркского периода, принявших участие в формировании тувинского этноса (*азы, чики, тюрки-тюкю, теле тубо* и др.) выделяют группу *тубо (дубо)*, давшую впоследствии название племени *тува* [Сердобов, 1971; Маннай-оол, 2004;].

Значительную роль в формировании тувинского этноса сыграли и монголоязычные племена, контакты с которыми осуществлялись еще в древнетюркский период (VI-VIII вв.). Интенсивные миграции монголоязычного населения на территорию Тувы происходили, главным образом, из Северной Азии и в период покорения племен Тувы Чингисханом и его потомками в XIII-XIV вв. [Потапов, 1969а; Сердобов, 1971; Маннай-оол, 2004].

После распада Монгольской империи (конец XIV в.), население Тувы в течение двух веков было независимым. Этот период характеризуется

относительно компактным проживанием тувинских племен, что способствовало их консолидации как единого этноса. Однако, в конце XVI в. племена Тувы попадают под владычество Алтын-Ханов, затем во второй половине XVII – Джунгарского ханства. Стараясь избежать порабощения, тувинские племена кочевали на обширных территориях, достигая на севере верховьев р.Обь и на юге - бассейна Черного Иртыша [Сердобов, 1971; Вайнштейн, Маннай-оол, 2014]. Многие из этих племен остались кочевать с местными племенами различных территорий Сибири и в дальнейшем полностью смешались с ними [Сердобов, 1971; Вайнштейн, Маннай-оол, 2014].

С середины XVIII в. маньчжурская (Цинская) династия Китая подчиняет племена, населяющие территории Тувы, и именно в это время, племена, жившие разрозненно на обширных территориях, были разделены на несколько основных административных единиц - хошунов (районов), которые ограничивали границы их кочевий, и, таким образом, к началу XIX завершилось формирование тувинского этноса [Потапов, 1969а; Анайбан, Маннай-оол, 2013; Вайнштейн, Маннай-оол, 2014;]. Одним из важных факторов этого процесса было установление административного деления, основанного, главным образом, не на родовом, а на территориальном принципе, что способствовало стиранию племенных различий, стабилизации этнического состава населения и консолидации тувинцев в единую народность [Потапов, 1969а; Маннай-оол, 2004]

Таким образом, в современном тувинском этносе можно выделить несколько основных этнических компонент: тюркская, наиболее существенная монгольская, в меньшей степени, возможно, самодийская, кетская и некоторые элементы индоевропейской компоненты [Кызласов, 1969; Потапов, 1969а; Сердобов, 1971; Вайнштейн, 1972; Татаринцев.,1976, 1980; Алексеев, 1984; Маннай-оол., 2004].

Еще для древних тувинских племен была характерна неравномерность в расселении родоплеменных групп на территории Тувы, в зависимости от их

этнического происхождения [Потапов, 1969а; Сердобов, 1971; Вайнштейн, 1972]. Данные антропологии, этнографии и лингвистики указывают на значительные различия между территориальными группами тувинцев. В частности, на территории Тувы выделяют три антропологических типа: монголоидный, характерный для южных групп тувинцев; антропологический тип с ослабленной выраженностью монголоидной компоненты, распространенный в западной части Тувы, и самостоятельную группу тувинцев-тоджинцев, населяющих северо-восток Тувы, которых иногда относят к байкальскому антропологическому типу [Вайнштейн, 1972; Богданова, 1978; Вайнштейн, 1980; Алексеев, 1984, Алексеева, 1984]. Территориальная дифференциация тувинцев прослеживается и лингвистами, выделяющими несколько диалектов тувинского языка [Чадамба, 1974; Баскаков, 1988; Бичелдей, 2001]. Эта тенденция, отражающаяся в дифференциальном расселении родовых фамилий, сохранилась и в настоящее время [Кучер и др., 1999а; Пузырев и др., 1999].

1.7.2. Популяционно-генетические исследования в Республике Тыва

Исследования популяционно-генетического разнообразия населения Республики Тыва проводились в разные периоды и с участием различных исследователей. Наиболее детальные и масштабные исследования по изучению генофонда коренного населения Тувы в конце 90-х годов были проведены учеными Института медицинской генетики СО РАМН (г.Томск).

В числе самых первых работ по изучению генофонда тувинцев были исследования иммунологических и серологических маркеров, среди которых, в основном, анализировались системы групп крови ABO, MN, Rhesus [Рычков, 1965; Рычков и др., 1969].

В последующих работах, наряду с иммунологическими и серологическими маркерами, был исследован и ряд биохимических локусов [Спицын и др., 1984; Матракин и др., 1993; Иванова и др., 1995; Одинокова и др., 1997; Кучер, 2000, 2001, 2003].

В дальнейшем, изучению генетического разнообразия популяции тувинского народа была посвящена серия работ, основанных на использовании маркерных локусов мтДНК, Y-хромосомы и некоторых аутосомных локусов (Alu-повторы, микросателлиты) [Салюков и др., 1997; Голубенко и др., 2000, 2001; Деренко и др., 2002, 2003; Степанов, Пузырев, 2000а, б; Степанов, 2002]. В целом, данные по полиморфизму «классических» маркерных систем и гаплотипов мтДНК показали достаточно высокую внутривидовую генетическую гетерогенность коренного населения Тувы, связанную, по-видимому, с различным соотношением вклада древних монгольских, самодийских, кетских и тюркских племен и древних европеоидных народов [Голубенко и др., 2000; Кучер, 2001; Степанов, 2002, Деренко и др., 2003; Кучер и др., 2003].

В работах по изучению полиморфизма микросателлитных локусов Y-хромосомы также получены данные о высокой внутривидовой изменчивости мужского генофонда населения Тувы. Специфика спектра и распространенность отдельных гаплогрупп Y-хромосомы свидетельствовали о наличии в современном пуле Y-хромосомы тувинцев нескольких древних европеоидных компонентов, возможно, возникших раньше начала формирования тувинского этноса, и некоторой обособленности мужского генофонда тувинцев, как от современных европеоидных популяций, так и от других этнических групп, внесших свой вклад в этногенез тувинцев в более поздние исторические времена [Степанов, Пузырев, 2000а,б; Деренко и др., 2002; Степанов, 2002].

Исследования по изучению генетической дифференциации популяций тувинцев, проведенные с помощью аутосомных микросателлитных локусов и Alu-повторов, выявили высокий уровень полиморфизма этих маркеров и существенную территориальную неоднородность их распределения у населения Тувы. Так, по данным о полиморфизме Alu-повторов, было показано, что популяция тувинцев, населяющая западные районы Тувы, является наиболее обособленной благодаря присутствию древне-

европеоидной компоненты. По оценке генотипического разнообразия на основании анализа микросателлитных локусов обнаружилось выраженное отличие тоджинцев, проживающих на Восточных Саянах, от остальных популяций тувинцев. Вероятно, эти две различные системы аутосомных генетических маркеров позволили выявить различные временные пласты формирования генетических различий тувинцев. Alu-повторы, как более консервативная система, отразили более древние процессы, связанные с влиянием древне-европеоидной компоненты, а более переменные микросателлитные локусы зафиксировали различия между тоджинцами и собственно тувинцами, сложившиеся позднее [Степанов, 2002]. Эти данные соответствуют сведениям некоторых этнографов о значительных различиях в этногенезе степных тувинцев, составляющих большинство населения республики, от этногенеза тувинцев-тоджинцев, для которых характерно большее влияние кетских и самодийских племен [Алексеев, 1984; Вайнштейн, 1972].

1.7.3. Генетико-эпидемиологические и медико-генетические исследования в Республике Тыва

Первые комплексные медико-генетические исследования в Республике Тыва, с применением современных клинических и лабораторно-диагностических подходов, начали проводиться в конце 90-х годов сотрудниками Института медицинской генетики СО РАМН (г.Томск). Нужно также отметить, что Томский институт медицинской генетики внес большой вклад в становлении и развитии медико-генетической службы в Республике Тыва.

В результате проведенных исследований была охарактеризована генетико-демографическая структура тувинской популяции [Кучер и др., 1999а, б; Кучер, 2001; Кучер и др., 2003], изучена эпидемиология ряда наследственных заболеваний и врожденных пороков развития в тувинской популяции, их распространенность на территории Республики, оценен

удельный вес груза наследственной и врожденной патологии в популяции Республики Тыва [Пузырев, 1999]. Кроме того, были проведены исследования по анализу полиморфизма кандидатных генов ряда многофакторных заболеваний и генов некоторых моногенных болезней [Кучер и др., 2003]. Популяция Республики Тыва характеризуется разнообразием наследственной и врожденной патологии и уровень отягощенности по этим заболеваниям широко варьирует по районам Республики. Так, среди аутосомно-доминантных заболеваний наиболее часто встречались ахондроплазия, врожденный птоз, альбинизм с кожно-глазной формой и др. Из аутосомно-рецессивных заболеваний выделялись по частоте мукополисахаридоз, глухонемота, микротии с атрезией наружного слухового прохода. X-сцепленные наследственные болезни, в основном, были представлены различными клиническими картинами ихтиоза и умственной отсталости [Пузырев, 1999]. Из множественных врожденных аномалий развития выделялся по частоте синдром Дауна (36%) и около половины случаев были представлены неклассифицированными формами. Из изолированных пороков часто встречались аномалии развития костно-мышечной, сердечно-сосудистой систем и пороки развития центральной нервной системы и органов чувств [Пузырев, 1999].

Что касается эпидемиологических исследований наследственной глухоты в Республике Тыва, то они были ограничены малым числом обследованных больных с нейросенсорной тугоухостью и глухонемотой в отдельных районах Республики. Сегрегационный анализ, проведенный в семьях с тугоухостью/глухотой, позволил выявить (на момент исследования) разные типы наследования заболевания - аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный и рецессивный, сцепленный с X-хромосомой [Пузырев, 1999].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы для эпидемиологического анализа, молекулярно-генетического исследования нарушений слуха и характеристики социально-демографических параметров людей с тугоухостью/глухотой были получены в г.Кызыле и в ходе экспедиционных выездов по районам (кожуунам) Республики Тыва в период с 2010г. по 2014г.

Источники информации для создания базы данных о больных с потерей слуха в Республике Тыва

Для создания базы данных об индивидуумах с потерей слуха, проживающих в Республике Тыва, использовались различные информационные источники. Наиболее полная информация о типе и степени потери слуха получена для больных младшей возрастной группы (от 2 до 24 лет), состоявших на учете (на 2010-2012гг) у детского сурдолога Республиканской детской больницы (г.Кызыл). Эта информация дополнялась сведениями об учащихся и недавних выпускниках (возрастная группа 21-24 года) специальной (коррекционной) общеобразовательной школы-интерната 1-го вида для незлышащих детей (г.Кызыл). Для взрослого населения с нарушениями слуха в Республике Тыва в настоящее время отсутствует единый информационный ресурс, который позволил бы получить точные сведения о типе и степени потери слуха больных. В связи с этим, была проведена работа по аккумуляции соответствующей информации из различных источников: бюро медико-социальной экспертизы (МСЭ) по Республике Тыва, региональное отделение Всероссийского общества глухих (ВОГ), персональное анкетирование больных.

Характеристика выборки больных для молекулярно-генетических исследований

Выборка больных для молекулярно-генетического анализа составила 201 человек в возрасте от 2 до 69 лет. Характеристика больных представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика выборки больных.

Количество больных	Общее число больных	201
	Число неродственных семей с больными индивидами*	174
Пол	Мужской	99
	Женский	102
Этнический состав	Тувинцы	192
	Русские	7
	Смешанная этническая принадлежность	2
Место проживания	г.Кызыл	76
	Улуг-Хемский район	27
	Кызылский район	20
	Дзун-Хемчикский район	15
	Другие районы Республики Тыва (n=14)	63
Тип потери слуха	Нейросенсорный	122
	Смешанный	3
	Недифференцированный тип потери слуха (диагноз «врожденная глухота» или «врожденная глухонмота»)	76
Степень потери слуха	III-IV степень и/или глухота	197
	II-III степень	4
Начало манифестации заболевания	Врожденная или раннего начала (до 2-3 лет) потеря слуха	188
	С 5-10 лет	13

* - В 154 из 174 неродственных семей было обследовано по одному больному, в 20 семьях - от 2 до 4 больных.

Для каждого больного имелся аудиологический диагноз, поставленный на основании клинических данных о типе потери слуха, отоларингологического осмотра и результатов пороговой тональной аудиометрии. Степень нарушений слуховой функции на основании средних значений порогов слышимости на речевых частотах (дБ, децибелы) классифицировались согласно международным стандартам [«Genetics Evaluation Guidelines...», 2002; Таварткиладзе и др., 2006]: 1-ая степень (легкая тугоухость) - 26-40 дБ, 2-ая степень (умеренная тугоухость) - 41-55 дБ, 3-я степень (выраженная тугоухость) - 56-70 дБ, 4-ая степень (тяжелая тугоухость) – 71-90 дБ, глухота - > 91 дБ.

Кроме того, для каждого больного была заполнена специальная информационная карта, содержащая сведения: о поле, возрасте, этнической принадлежности (выяснялась преимущественно до третьего поколения), месте рождения и проживания, сурдологическом диагнозе, возрасте, в котором было впервые зафиксировано нарушение слуха, состоянии слуха у родителей и близких родственников, а также составлена родословная, позволяющая уточнить родственные связи пробандов. Больные до 18-20 лет (112 чел.), в основном (95 чел.), являлись учащимися специальной (коррекционной) общеобразовательной школы-интерната 1-го вида для незлышающих детей (гКызыл).

Больные с врожденной (или возникшей в раннем детском возрасте) нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и/или глухотой составляют наибольшую часть выборки. На основе наличия или отсутствия информации о средовых факторах, предположительно приведших к потере слуха, обследованные больные были подразделены на две подгруппы – I и II.

В подгруппу I включено 147 больных, в анамнезе которых нет указаний на вероятные этиологические факторы, приведшие к потере слуха. В подгруппу II вошли 54 больных, для которых имелась информация о средовых факторах, таких как перенесенные в раннем детском возрасте инфекционные заболевания (менингит и другие нейроинфекции), прием

антибиотиков, родовая травма, асфиксия новорожденного, недоношенность и низкий вес при рождении, черепно-мозговая травма. Кроме того, в анамнезе 22 больных были указания (в качестве сопутствующего заболевания) на зоб и другие нарушения функции щитовидной железы.

Контрольная выборка

Контрольная выборка включала в себя 121 чел. (в возрасте от 9 до 72 лет, женского пола – 81 чел., мужского пола – 40 чел.). В выборку вошли несвязанные близким родством тувинцы из всех районов Республики Тыва, не состоящие на учете у сурдолога и без признаков снижения слуха (кроме пяти человек, указавших на некоторое снижение слуха, возникшее у них в разном возрасте).

У всех участников исследования после письменного информированного согласия на обследование (у детей - после письменного информированного согласия родителей или опекунов) был осуществлен забор венозной крови из локтевой вены для выделения образцов ДНК. Исследование одобрено Министерством здравоохранения Республики Тыва и комиссией по биоэтике Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск).

Источники информации для социально-демографической части исследований

Для получения социально-демографических характеристик группы людей с потерей слуха (половозрастной состав, уровень брачности, брачная структура, параметры репродукции, социальный статус и психо-эмоциональные характеристики) был использован ряд источников информации: персональное анкетирование глухих индивидуумов, опрос родственников, сведения из регионального отделения Всероссийского общества глухих (РО ВОГ), бюро медико-социальной экспертизы (МСЭ).

Кроме того, с помощью разработанных специализированных анкет было проведено персональное социологическое интервьюирование (анкетирование) 118 взрослых (≥ 19 лет) глухих индивидуумов. В анкете были сформулированы блоки вопросов, позволяющие получить информативные данные о возрасте, месте рождения, национальности, брачном статусе, возрасте возникновения нарушений слуха, самооценке степени потери слуха, образовании, трудозанятости, материальном положении, типах коммуникации, степени владения жестовым языком и(или) речью. Ряд вопросов позволял также оценить психоэмоциональное состояние глухих людей и их взаимоотношения с обществом. Полученные при анкетировании данные в некоторых случаях были дополнены в ходе опроса родственников.

Сегрегационный анализ

Материалом для проведенного классического сегрегационного анализа послужили данные о ядерных семьях с известным распределением здоровых и больных потомков с нейросенсорной тугоухостью/глухотой (НТ/Г), для которых возможные этиологические средовые факторы в возникновении потери слуха были исключены.

При доминантном наследовании наиболее информативными для анализа являются потомки браков между индивидами с гомозиготным и гетерозиготным генотипами, в предположении, что все здоровые индивиды имеют нормальный гомозиготный генотип, а большая часть больных (при низкой частоте аллеля, вызывающего болезнь) являются гетерозиготами. Все потомки родительских пар, в которых один родитель болен, а другой здоров, были объединены для тестирования доминантного типа наследования. Сегрегационная частота вычислялась как отношение числа больных к общему числу потомков. Ошибка оценки определялась по формуле

$$SE = \sqrt{p(1-p)/(T-1)} ,$$

где p – частота больных потомков, T – общее число потомков.

Для тестирования рецессивного типа наследования была сформирована выборка семей, в которых оба родителя здоровы и есть хотя бы один больной ребенок. Оценка сегрегационной частоты производилась по методу, предложенному Li и Mantel, по формуле

$$p=(R-kJ_k)/(T-kJ_k),$$

где R – число больных потомков во всех sibствах, T – общее число потомков, J_k – число семей с k больными потомками [Li, Mantel, 1968], Дисперсия этой оценки вычислялась как величина, обратная взвешенной сумме вкладов семей разного размера. Для вычисления дисперсии V и ошибки $SE = \sqrt{V}$ использовалась таблица весов, приведенная в работе Li и Mantel [Li, Mantel, 1968]. 95%-ный доверительный интервал для оценки сегрегационной частоты определялся как $p \pm 1.96 \times SE$.

Молекулярно-генетические методы

Экстракция ДНК

Геномная ДНК экстрагирована из лейкоцитов периферической крови стандартным фенол-хлороформным методом [Sambrook et al., 1989].

Выявление мутаций гена *GJB2*

Для выявления мутаций гена *GJB2* (Сх26, МIM121011) в 201 образце ДНК больных и в 121 образце ДНК контрольной выборки проведено ресеквенирование по Сэнгеру всего белок-кодирующего района (экзон 2), экзон 1-интронной области и фланкирующих последовательностей гена *GJB2*, что позволило выявить весь спектр мутационных изменений в нуклеотидной последовательности этого гена.

Аmplификация различных фрагментов гена *GJB2* проводилась с помощью ПЦР на амплификаторе “Mastercycler gradient” («Eppendorf»). В

таблице 2 приведены праймеры, используемые для амплификации фрагментов гена *GJB2*. Праймеры 835F/835R и Ex1-792F/Ex1-2239R подобраны с помощью программы Primer Premier 5, условия проведения ПЦР представлены в таблице 3.

Таблица 2. Праймеры для амплификации фрагментов гена *GJB2*.

Фрагмент гена <i>GJB2</i>	Название и структура праймеров
Кодирующий район (экзон 2) гена <i>GJB2</i>	835F: 5'-TGCTTGCTTACCCAGACTCA-3' 835R: 5'-CCTCATCCCTCTCATGCTGT-3' либо CX26-F: 5'-TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-3' CX26-R: 5'-CTGGGCAATGCGTTAAACTGG-3'
Экзон 1-интронная область гена <i>GJB2</i>	Ex1-F: 5'-TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-3' Ex1-R: 5'-CTGGGCAATGCGTTAAACTGG-3' либо Ex1-792F: 5'-GCGTTCGTTCGGATTGGT-3' Ex1-2239R: 5'-CGGAAACAGACCCTCGTG AAGT-3'

Таблица 3. Условия проведения ПЦР.

Праймеры	Состав реакционной смеси	Термопрофиль реакции
835F/835R	ДНК – 1.0 mkl 10 pmol/mkl 835F – 0.3 mkl 10 pmol/mkl 835R -0.3 mkl 10X Buffer (+MgCl ₂) (SibEnzyme) – 2.5 mkl 0.5 mM dNTPs – 12.5 mkl Taq-polymerase (SibEnzyme) – 0.3 mkl H ₂ O - 8.1 mkl ----- V=25 mkl	Денатурация: 97°C – 5' ----- Плавление - 95°C – 20'' Отжиг - 60°C – 20'' Элонгация - 72°C – 30'' ----- 36 циклов Хранение - 8°C
Ex1-792F/Ex1-2239R	ДНК – 1.0 mkl 10 pmol/mkl Ex1-792F – 0.8 mkl 10 pmol/mkl Ex1-2239R – 0.8 mkl 10X Buffer – 4.0 mkl 5 mM dNTPs – 1.6 mkl Taq-polymerase – 0.2 mkl 50 mM MgCl ₂ – 3.7 mkl Glycerol 50% - 12.0 mkl H ₂ O – 15.9 mkl ----- V==40 mkl	Денатурация: 95°C – 1'30'' ----- Плавление - 95°C – 10'' Отжиг - 60°C – 15'' Элонгация - 72°C – 1'30'' ----- 38 циклов Хранение - 8°C

Праймеры CX26-F/CX26-R и условия проведения ПЦР взяты из статей [Kelsell et al., 1997; Kelley et al., 1998], праймеры Ex1-F/Ex1-R и условия проведения ПЦР взяты из статьи [Sirmaci et al., 2006]. ПЦР-продукты идентифицировали при горизонтальном электрофорезе в 1-2% агарозном геле (буфер 1xTAE) с бромистым этидием с помощью системы геледокументации Molecular Imager Gel Doc XR System (BioRad) и просмотром в ультрафиолетовом свете.

Очистка фрагментов ДНК от компонентов реакции ПЦР

Очистку ПЦР-продукта осуществляли на магнитных частицах (Angencourt® AMPure®XP, «Bekman Coulter», USA) согласно варианту протокола, любезно предоставленного И.В. Морозовым (ЦКП СО РАН "Геномика", г.Новосибирск), на роботизированной станции Freedom EVO (Tecan, Швейцария).

Секвенирование по Сэнгеру

Нуклеотидную последовательность амплифицированных фрагментов гена *GJB2* после предварительной очистки ПЦР-продуктов на магнитных частицах определяли ресеквенированием по Сэнгеру с использованием набора BigDye® Terminator v3.1. или v1.1.

Реакция Сэнгера содержала: ДНК-матрицу, 1-2 мкл 10мМ праймера, 1 мкл реагента BigDye, 8 мкл 5X буфера для секвенирования и воду квалификации MiniQ до общего объема реакции в 40 мкл.

Для проведения реакции Сэнгера использовали следующий температурный профиль: денатурация при 95°C в течение 3 мин; затем 50 циклов: плавление при 95°C – 30 сек, отжиг праймеров при 52°C – 10 сек и элонгация при 60°C – 4 мин.

Продукты реакции Сэнгера очищали от невключившихся флуоресцентных красителей BigDye и солей с помощью гельфилтрации

через предварительно замоченный в бидистиллированной воде Sephadex G-50 (GE Healthcare) из расчета 700-800 мкл суспензии сорбента (вес 1:20 / Sephadex G50:вода) на миниколонку для одной реакции. Фильтрат с продуктами реакции Сэнгера высушивали на вакуумном концентраторе (Eppendorf, Germany) и разделяли электрофорезом на автоматических капиллярных секвенаторах 3130XL («Applied Biosystems», USA) в ЦКП СО РАН "Геномика" (г.Новосибирск).

Нуклеотидные последовательности ресеквенированных фрагментов анализировали с использованием программы FinchTV 1.4.0, сопоставляя с референсными последовательностями M86849.2 и U43932.1 (GenBank) гена *GJB2*.

Статистические методы

Для статистического анализа результатов в работе применяли точный метод Фишера и стандартные статистические методы. Все данные в тексте и таблицах представлены в виде средних значений и стандартных отклонений ($M \pm SE$). Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Результаты эпидемиологического исследования нарушений слуха в Республике Тыва

Нарушения слуха относятся к частым заболеваниям органов чувств, приводящим, как правило, к инвалидизации больных и снижающих их социальную адаптацию в обществе. В основе нарушений слуха могут лежать как генетические факторы, приводящие к наследуемым формам нарушений слуха, так и внешние факторы, среди которых нужно выделить последствия внутриутробных инфекций, низкий вес ребенка при рождении, влияние инфекционных факторов и ототоксичных препаратов в раннем детстве и др., которые приводят к приобретенным формам глухоты. Выяснение этиологических причин глухоты имеет важное значение для последующей диагностики болезни, определения методов лечения, социальной реабилитации глухих и медико-генетического консультирования отягощенных семей (в случаях генетически обусловленной потери слуха). В данном разделе приводятся результаты проведенных в Республике Тыва работ по 1) созданию базы данных людей с потерей слуха; 2) эпидемиологическому анализу нарушений слуха; 3) сегрегационному анализу несиндромальной нейросенсорной тугоухости / глухоты предположительно генетической этиологии.

3.1.1. Создание информационной базы данных о больных с потерей слуха в Республике Тыва

Создана единая база данных, включающая сведения о поле, возрасте, месте проживания, этнической принадлежности, аудиологическом диагнозе, начале манифестации патологии для 1407 индивидов с различными нарушениями слуха, проживающих в Республике Тыва, в возрасте от 2 до 86 лет (697 лиц мужского и 710 – женского пола). Различные источники

получения информации для детского и взрослого контингента больных обусловили определенную диспропорцию состава этих групп больных: наиболее полная информация получена для «детской» группы, в которую были включены больные даже с легкой и умеренной степенью тугоухости (I-II степени) в отличие от «взрослой» группы, где зарегистрированы, в основном, больные с тяжелой тугоухостью (III-IV степень) и глухотой, т.е. «социально-значимыми» нарушениями слуха, обратившиеся в сурдологопедический кабинет и бюро МСЭ Республики Тыва. В связи с отсутствием в лечебно-профилактических учреждениях Республики диспансерного учета взрослой категории больных с потерей слуха в течение многих лет, возможно, некоторая часть взрослых с менее выраженной тугоухостью (I-II степени) и больных пожилого и старческого возраста, осталась недоучтенной.

3.1.2. Анализ степени и типа потери слуха у больных

Степень нарушений слуховой функции анализировалась согласно международной классификации [«Genetics Evaluation Guidelines...», 2002; Таварткиладзе и др., 2006]. На рисунке 5.А представлено распределение больных, включенных в базу данных (1407 чел.), по степени потери слуха. Наибольшую долю (982 чел., 69.8%) составляет группа с тяжелой потерей слуха (тугоухость III-IV степени / глухота). Легкая и умеренная тугоухость отмечена у 10.1% и 4.9% больных, соответственно. Точная информация о степени потери слуха отсутствует для 159 больных (11.3%).

Отдельно выделена группа больных с различными аномалиями развития наружного и среднего отделов органа слуха (с атрезией наружного слухового прохода и различными деформациями ушной раковины, включая микроотию) - 55 чел. (3.9%) (рис.5.А). Большая часть больных этой категории имеет одностороннюю потерю слуха на ухо с анатомическим дефектом, однако, у некоторой части больных наблюдается потеря слуха разной

степени и на втором ухе. Полная глухота в случаях двусторонней атрезии слухового прохода отмечена у 4 человек.

Территориальное (г.Кызыл и 17 районов Республики Тыва) распределение всех больных, зарегистрированных в базе данных, по степени потери слуха, с выделением группы больных с социально значимыми нарушениями слуха (тугоухость III-IV степени и глухота) (982 чел.), представлено на рисунке 5.Б. Видно, что по всей Республике повсеместно преобладает численность людей с тяжелой степенью потери слуха.

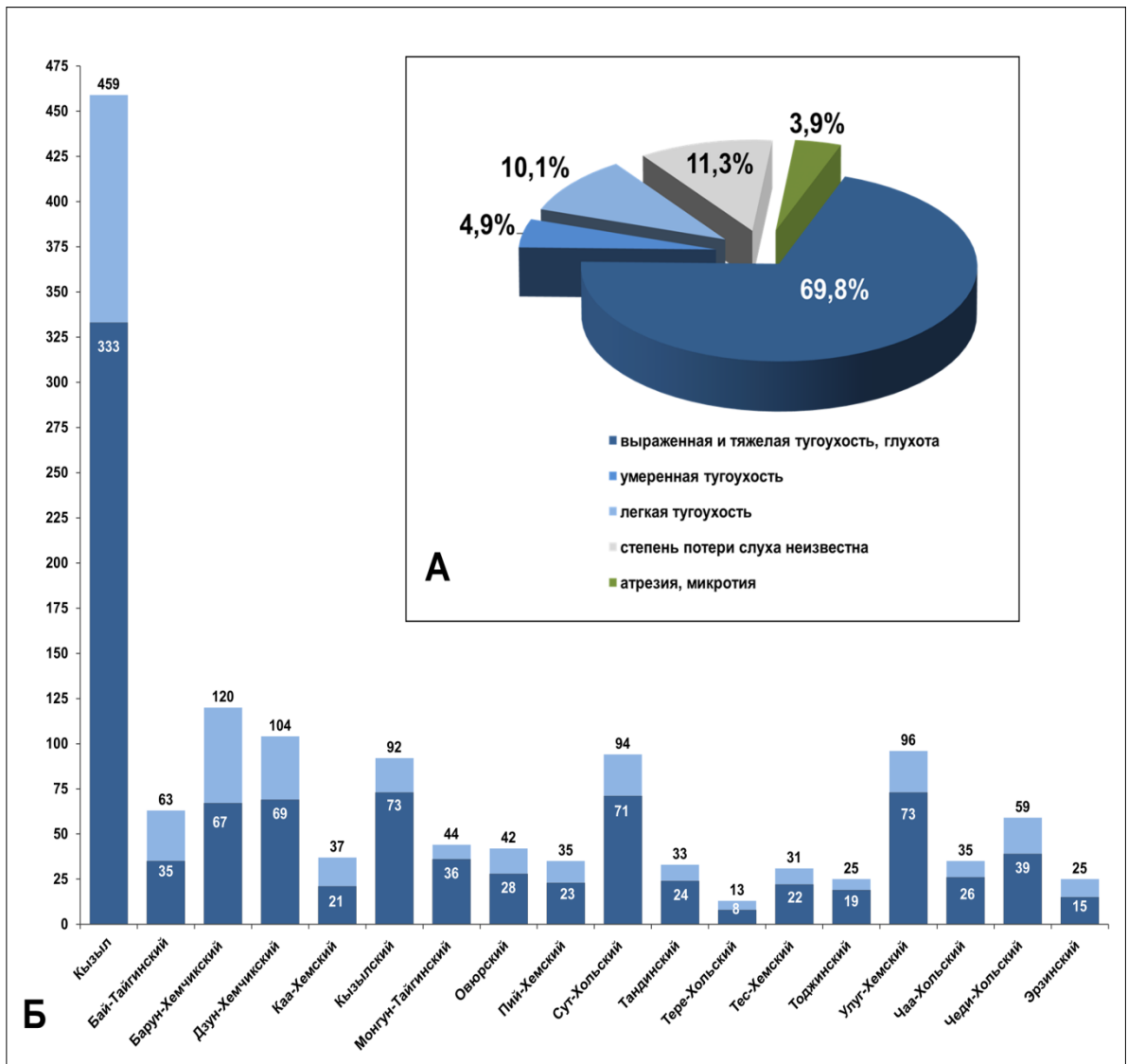


Рисунок 5. А. Распределение больных в Республике Тыва по степени потери слуха (1407 чел.). Б. Территориальное распределение больных с различными нарушениями слуха. (По оси ординат – число больных, по оси абсцисс – административно-территориальные подразделения Республики Тыва. Темно-синим цветом выделены больные с тяжелой, социально значимой, потерей слуха).

Распределение больных с тяжелой потерей слуха в возрастных группах (до 25 лет включительно, 26-50 лет, старше 50 лет) представлено на рисунке 6.

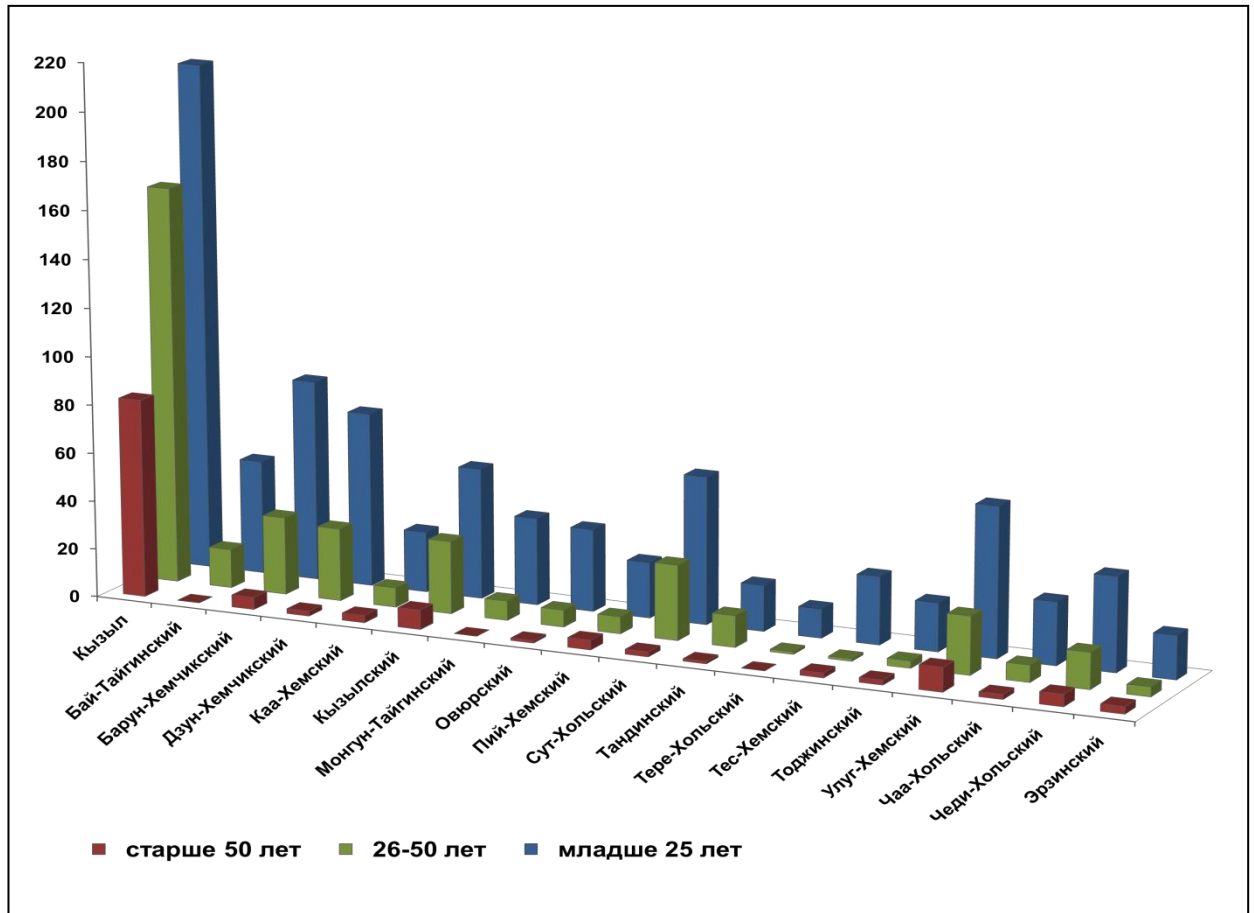


Рисунок 6. Распределение больных с тяжелой потерей слуха (тугоухость III-IV степени и глухота) в возрастных группах (до 25 лет включительно, 26-50 лет, старше 50 лет).

Во всех районах Республики среди больных с тяжелой тугоухостью / глухотой численно преобладает младшая возрастная группа (до 25 лет включительно). Одной из возможных причин может быть более полный диспансерный учет больных детей детской сурдологопедической службой Республики, поскольку около половины всей группы с тяжелой потерей слуха (982 чел.) составляет «детская» часть пациентов (465 чел.).

Можно предположить, что относительно высокая численность больных с потерей слуха в средней и старшей возрастных группах, проживающих в г.Кызыле, в отличие от сельской местности, связана с наличием там

единственной в Республике Тыва школы для незлышащих детей, выпускники которой, после окончания школы, имеют в городе больше возможностей для трудоустройства. Кроме того, это может быть следствием общей миграционной активности сельского населения в город, и, наконец, в городе существует более широкий, чем в сельской местности, круг общения глухих людей, использующих жестовый язык для коммуникации между собой.

Генетические факторы в этиологии потери слуха наиболее вероятны для нейросенсорной тугоухости тяжелой степени / глухоты, врожденной или возникшей в раннем детском возрасте. В связи с этим, для оценки доли потенциально «генетических» форм потери слуха у больных, включенных в базу данных (1407 чел.), был проведен анализ типов (кондуктивный, нейросенсорный, смешанный) потери слуха. Из-за отсутствия полных данных, тип потери слуха остался невыясненным у 130 человек (9.2%). Кондуктивная потеря слуха, обусловленная, в большинстве случаев, воспалительными процессами органа слуха (хронический мезотимпанит, адгезивный и экссудативный отит, тимпаносклероз), наблюдалась у 430 (30.6%) больных и около половины больных в этой категории имели тяжелую степень тугоухости или глухоту. Больные с атрезией и различными деформациями ушной раковины характеризовались преимущественно кондуктивным типом потери слуха. Категория больных со смешанным типом (заболевания проводящих путей органа слуха в сочетании с нейросенсорной компонентой) составила 187 человек (13.3%). Нейросенсорный тип потери слуха (патология звуковоспринимающего отдела органа слуха) выявлен у 380 больных (27.0%) и у подавляющего большинства больных из этой группы (318 чел.) определена тугоухость III-IV степени и глухота. Отдельную, достаточно многочисленную (280 чел., 19.9%), группу составили больные с диагнозами «врожденная глухонемота», «врожденная глухота», «глухонемота», «глухонемота с детства», «наследственная глухота», анализ аудиограмм которых свидетельствует о нейросенсорном типе потери слуха.

Таким образом, на основании анализа степени и типа потери слуха у больных, зарегистрированных в базе данных (1407 чел.), была выделена группа больных нейросенсорной тугоухостью/глухотой (НТ/Г), врожденной или возникшей в раннем детском возрасте (598 чел.). У части больных из этой группы в анамнезе имелись дополнительные сведения о сопутствующих заболеваниях (эпилепсия, врожденный гипотиреоз, эндемический зоб, ДЦП, тетрапарез, синдром Дауна и др.) и предположительных причинах потери слуха, среди которых: наследственная этиология (имеются глухие родственники), тяжелое гипоксическое (травматическое) поражение органа слуха и головного мозга (асфиксия, преждевременные роды, родовая травма), низкий вес при рождении, перенесенные нейроинфекции (серозный менингит и др.), ототоксические поражения ЦНС, психоневрологические нарушения неясного генеза, возрастные нарушения слуха (пресбиакузис). После исключения случаев со средовыми факторами, вероятно, приведшими к развитию нарушения слуха (58 чел.), была сформирована группа больных (540 чел., 38.4%) с врожденной или возникшей в раннем детском возрасте НТ/Г, в этиологии, которой наиболее вероятны генетические факторы.

3.1.3. Распространенность нарушений слуха в Республике Тыва

В таблице 4 представлены данные о распространенности форм тугоухости /глухоты, полученные на основе информации о больных с потерей слуха, зарегистрированных в базе данных (N=1407), у населения административно-территориальных подразделений Республики Тыва (г.Кызыл и 17 районов). Средняя распространенность тугоухости / глухоты различной этиологии (в расчете на 10000 чел. и на общую численность населения Республики Тыва) составила 45.5 ± 1.21 и 1 : 220, соответственно, варьируя от 25.5 ± 4.44 (1 : 392) в Тандинском районе до 117.9 ± 12.09 (1 : 85) в Сут-Хольском районе, а распространенность НТ/Г предположительно генетической этиологии - 17.5 ± 0.75 (1 : 573), варьируя от 7.3 ± 2.97 (1 : 1375) в Эрзинском районе до 31.4 ± 6.26 (1 : 319) в Сут-Хольском районе.

Таблица 4. Распространенность тугоухости / глухоты различного генеза в Республике Тыва.

Административно-территориальные образования Республики Тыва (г.Кызыл и районы)	Численность населения Республики Тыва (по данным "Тывастат" на 01.01.2012)	Число больных с тугоухостью различного генеза	Распространенность тугоухости различного генеза на 10000 чел. (на общую численность населения)	Число больных нейросенсорной тугоухостью III-IV степени / глухотой вероятной генетической этиологии	Распространенность нейросенсорной тугоухости III-IV степени / глухоты вероятной генетической этиологии на 10000 чел. (на общую численность населения)
г.Кызыл	111995	459	41.0±1.91 (1 : 244)	226	20.2±1.34 (1 : 496)
Бай-Тайгинский	10572	63	59.6±7.49 (1 : 167)	20	18.9±4.23 (1 : 529)
Барун-Хемчикский	26257	120	45.7±4.16 (1 : 218)	26	9.9±1.94 (1 : 1010)
Дзун-Хемчикский	19634	104	53.0±5.18 (1 : 189)	36	18.3±3.05 (1 : 545)
Каа-Хемский	12157	37	30.4±5.00 (1 : 329)	10	8.2±2.60 (1 : 1216)
Кызылский	28237	92	32.6±3.39 (1 : 307)	45	15.9±2.37 (1 : 627)
Монгун-Тайгинский	5643	44	78.0±11.71 (1 : 128)	13	23.0±6.38 (1 : 434)
Овюрский	6871	42	61.1±9.40 (1 : 164)	12	17.5±5.04 (1 : 573)
Пий-Хемский	9998	35	35.0±5.91 (1 : 286)	12	12.0±3.46 (1 : 833)
Сут-Хольский	7973	94	117.9±12.09 (1 : 85)	25	31.4±6.26 (1 : 319)
Тандинский	12923	33	25.5±4.44 (1 : 392)	12	9.3±2.68 (1 : 1077)
Тере-Хольский	1860	13	69.9±19.32 (1 : 143)	3	16.1±9.30 (1 : 620)
Тес-Хемский	8184	31	37.9±6.79 (1 : 264)	10	12.2±3.86 (1 : 818)
Тоджинский	6067	25	41.2±8.22 (1 : 243)	7	11.5±4.36 (1 : 867)
Улуг-Хемский	19109	96	50.2±5.11 (1 : 199)	41	21.5±3.35 (1 : 466)
Чаа-Хольский	6013	35	58.2±9.81 (1 : 172)	13	21.6±5.99 (1 : 463)
Чеди-Хольский	7603	59	77.6±10.06 (1 : 129)	23	30.3±6.30 (1 : 331)
Эрзинский	8251	25	30.3±6.05 (1 : 330)	6	7.3±2.97 (1 : 1375)
ВСЕГО	309347	1407	45.5±1.21 (1 : 220)	540	17.5±0.75 (1 : 573)

3.1.4. Сегрегационный анализ

После исключения случаев потери слуха, вероятно обусловленных средовыми факторами, была определена группа больных с НТ/Г (540 чел.) предположительно генетической этиологии. На основе имеющейся информации о родословных были сформированы 3 группы семей для тестирования различных гипотез о типе наследования патологии: 1) 267 семей с предположительно рецессивным типом наследования (оба родителя здоровы, «норма» x «норма», «Н x Н»), включающая 314 больных потомков; 2) 24 семьи с предположительно доминантным типом наследования (один из родителей болен, «глухой» x «норма», «ГЛ x Н»), включающая 17 больных потомков; 3) 49 семей, где оба родителя больны («глухой» x «глухой», «ГЛ x ГЛ»), включающая 21 больного потомка (таблица 5). Семьи с Х-сцепленным типом наследования НТ/Г, очевидным из анализа родословных, не были обнаружены.

Гипотеза о рецессивном контроле ($p_r=0.25$) тестировалась в группе семей «Н x Н». Семьи с единственным больным пробандом (50 семей) были исключены из анализа как неинформативные (таблица 5). На первом этапе сегрегационного анализа в этой категории семей анализировалось 217 семей с размером sibства от 2 до 12 и числом больных потомков от 1 до 4 (всего 264 больных). Полученная оценка сегрегационной частоты $p=0.128 \pm 0.019$ (CI=0.091-0.167) не соответствовала ожидаемой ($p_r=0.25$). Это, вероятно, связано с определенным числом спорадических случаев, обусловленных как неявными генетическими, так и невыясненными средовыми этиологическими факторами. Оценка частоты таких спорадических случаев $p_s=0.270 \pm 0.017$ была рассчитана как отношение числа потомков, являющихся единственными больными в семье (179 чел.), к общему числу всех потомков (662 чел.) в группе таких семей. На втором этапе тестирования гипотезы о рецессивном типе наследования анализировались семьи, имеющие не менее двух больных потомков (38 семей с 85 больными). Полученная в этом случае оценка сегрегационной частоты $p=0.197 \pm 0.039$ (CI=0.120-0.274) достоверно не отличалась от ожидаемой ($p < 0.05$).

Таблица 5. Типы семей с нейросенсорной тугоухостью III-IV степени / глухотой (НТ/Г).

Семьи с НТ/Г (оба родителя здоровы, «Н x Н») n=267					
Число сибсов в семье	Всего семей	Число больных сибсов в семье			
		1	2	3	4
1*	50	50			
2	54	49	5		
3	59	51	8		
4	46	36	9		1
5	25	22	1	2	
6	13	8	4	1	
7	8	4	2	1	1
8	4	4			
9	4	3		1	
10	1	1			
11	1		1		
12	2	1	1		
Всего больных сибсов		314			
Всего сибсов		891			

Семьи с НТ/Г (один из родителей болен, «Н x ГЛ») n=24					
Число сибсов в семье	Всего семей	Число больных сибсов в семье			
		0	1	2	3
1	8	6	2		
2	5	3	2		
3	4	3	1		
4	3		2	1	
6	2		1	1	
7	1				1
12	1			1	
Всего больных сибсов		17			
Всего сибсов		73			

Семьи с НТ/Г (оба родителя больны, «ГЛ x ГЛ») n=49					
Число сибсов в семье	Всего семей	Число больных сибсов в семье			
		0	1	2	3
1	11	3	8		
2	19	15	2	2	
3	13	10	1	1	1
4	6	5	1		
Всего больных сибсов		21			
Всего сибсов		112			

* Семьи с единственным больным потомком исключены из сегрегационного анализа

Гипотеза об аутосомно-доминантном типе наследования НТ/Г ($p_d=0.5$) тестировалась в группе семей «ГЛ х Н» ($n=24$), регистрация которых осуществлялась методом полного отбора категории больных родителей, состоящих в браке с нормально слышащим брачным партнером. В 12 из 24 семей «ГЛ х Н» были только здоровые потомки, в 10 – и больные, и здоровые, и две семьи имели только по одному больному (всего 17 больных потомков) (таблица 5). Полученная сегрегационная частота $p=0.233$ ($CI=0.135-0.330$) не соответствовала ожидаемой ($p>0.1$). Очевидная «нехватка» больных потомков, возможно, обусловлена спорадическими случаями потери слуха у больных родителей в семьях, где все потомки здоровы.

В третьей группе, где оба родителя больны («ГЛ х ГЛ», $n=49$), семьи распределились следующим образом: в 33 семьях были только здоровые потомки, в 5 семьях – и больные, и здоровые потомки, в 11 семьях – только больные потомки (таблица 5). Последняя категория семей относится к типу так называемых некомплементарных браков [Nance et al., 2000], в которых потеря слуха у родителей, с наибольшей вероятностью, обусловлена мутациями одного и того же рецессивного гена. В этом контексте, к комплементарным бракам можно отнести семьи «ГЛ х ГЛ», где все потомки здоровы (33 семьи), для которых вероятны несколько ситуаций: патология слуха у обоих родителей обусловлена мутациями разных генов, контролирующих НТ/Г; у родителей могут быть различные комбинации приобретенной НТ/Г и рецессивно или доминантно наследуемой НТ/Г. В семьях «ГЛ х ГЛ», в которых выявлены и больные, и здоровые потомки (5 семей), наиболее вероятно сочетание доминантной формы НТ/Г у одного из родителей и приобретенной НТ/Г – у другого. С учетом очевидной неоднозначности определения типов наследования НТ/Г, сегрегационный анализ в семьях «ГЛ х ГЛ» не проводился.

При рассмотрении родословных больных с потерей слуха было выявлено несколько сложных родословных, включающих в себя различные

категории ядерных семей с потерей слуха (рисунок 6). Детальное изучение таких родословных позволяет предположить наличие более чем одного гена, контролирующего потерю слуха, в Республике Тыва.

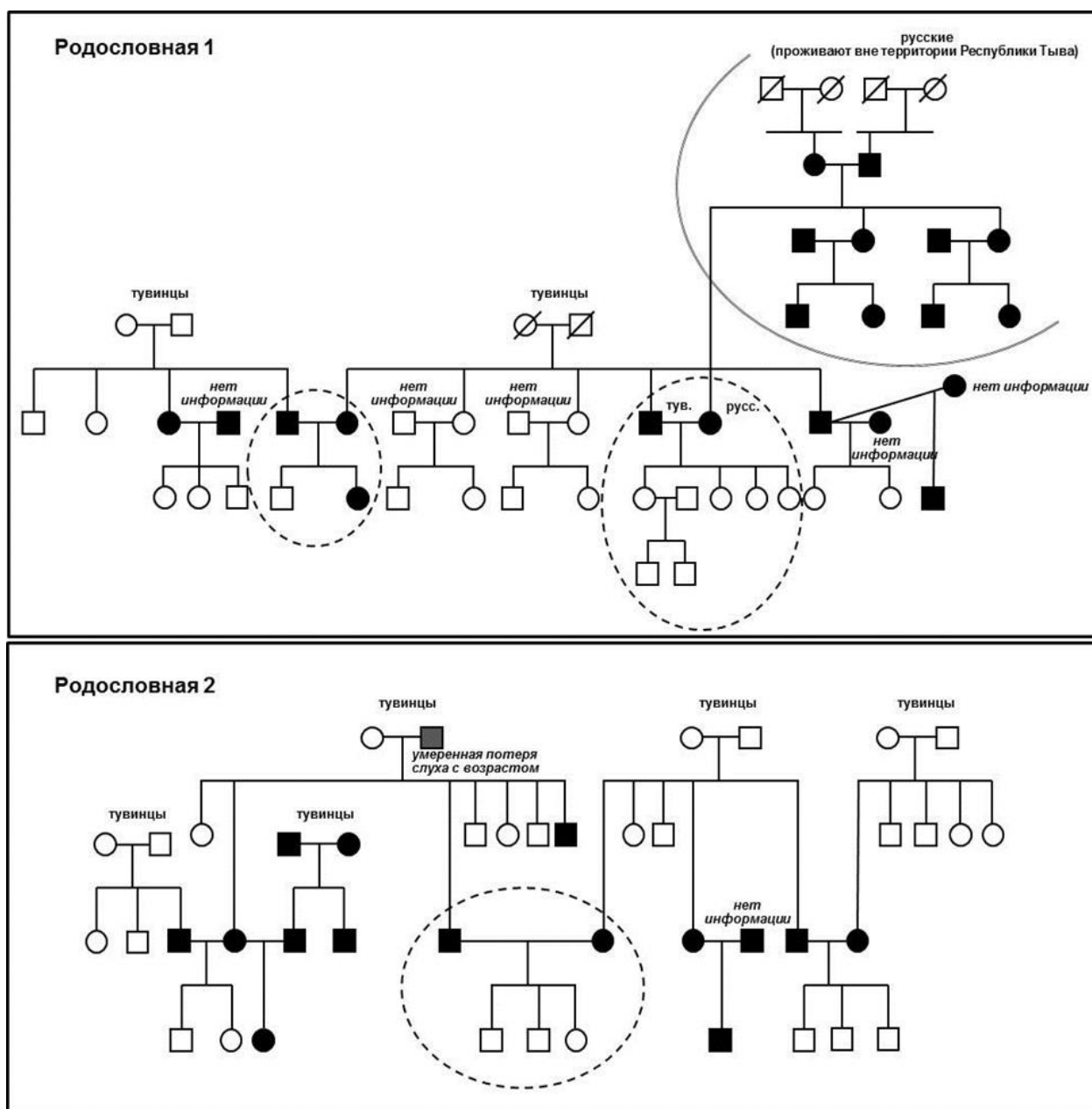


Рисунок 7. Родословные больных с потерей слуха тяжелой степени, включающие несколько ядерных семей. Наследование патологии в семьях, выделенных прерывистой линией, предположительно может быть обусловлено мутациями разных генов. Индивидуумы с потерей слуха выделены черным цветом.

Таким образом, в результате эпидемиологического исследования различных форм тугоухости/ глухоты впервые в Республике Тыва создана единая база данных, включающая сведения о 1407 больных с потерей слуха. Тяжелые (социально-значимые) формы потери слуха, требующие оказания медико-социальных реабилитационных мер имеют около 70% больных (982 чел). Эпидемиологический анализ больных с различными типами глухоты позволил выделить группу больных с нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени/глухотой – 540 чел. (38.4%), потеря слуха которых, вероятно, обусловлена генетическими факторами.

Распространенность тугоухости/глухоты различной этиологии в Республике Тыва составляет, в среднем, 1 : 220 чел., варьируя от 1 : 392 чел. в Тандинском районе до 1 : 85 чел. в Сут-Хольском районе, а распространенность НТ/Г предположительно генетической этиологии в среднем, равна 1 : 573 чел., варьируя от 1 : 1375 чел. в Эрзинском районе до 1 : 319 чел. в Сут-Хольском районе.

Проведенный нами сегрегационный анализ позволил подтвердить аутосомно-рецессивный тип наследования тугоухости/глухоты только в части обследованных семей, что, по-видимому, связано с присутствием определенного числа спорадических случаев потери слуха в анализируемых семьях. Результаты сегрегационного анализа и детальное изучение родословных ряда ядерных семей позволили выдвинуть предположение о наличии более чем одного гена, контролирующего потерю слуха, в Республике Тыва.

3.2. Результаты молекулярно-генетического исследования наследственной глухоты в Республике Тыва

Известно, что около половины всех случаев несиндромальной аутосомно-рецессивной глухоты связаны с мутациями в гене *GJB2* (Сх26).

Поэтому выявление мутаций в гене *GJB2* (Cx26) является важным дифференциально-диагностическим критерием, разграничивающим наследственные и приобретенные формы глухоты, и имеет важное значение в проведении медико-генетического консультирования семей с наследственной глухотой. В данном разделе приведены результаты молекулярно-генетического исследования пациентов с несиндромальной наследственной тугоухостью/глухотой в Республике Тыва и контрольной выборки тувинцев, не страдающих нарушением слуха.

3.2.1. *GJB2*-генотипы, выявленные в исследованных выборках

Оценка вклада мутаций гена *GJB2* в этиологию нарушений слуха в обследуемой выборке больных имеет важное медико-социальное значение как для постановки точного диагноза самим больным, принятия соответствующих реабилитационных мероприятий и медико-генетического консультирования отягощенных семей, так и для прогноза распространенности этой наиболее частой генетической формы потери слуха в изучаемом регионе. Патогенетический вклад гена *GJB2* (Cx26) в этиологию нарушений слуха у обследуемых больных определялся как доля больных, у которых были выявлены биаллельные рецессивные мутации гена *GJB2* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии («Cx26-позитивные» пациенты).

В результате ресеквенирования по Сэнгеру всего белок-кодирующего района (экзон 2), экзон 1-интронной области и фланкирующих последовательностей гена *GJB2* было выявлено 26 различных *GJB2*-генотипов, из которых 8 – с биаллельными рецессивными мутациями; 10 – с одной рецессивной мутацией; 7 генотипов с различными полиморфными вариантами гена *GJB2* и нормальный *GJB2*-генотип (wt/wt).

Распределение генотипов по гену *GJB2* у обследованных больных приведено в таблице 6. Родословные для всех обследованных больных

(N=201) с результатами генотипирования гена *GJB2* представлены в Приложениях I-III.

Рецессивные мутации p.W172C (с.516G>C), IVS1+1G>A (с.-23+1G>A), с.235delC, p.V37I (с.109G>A), с.299_300delAT, с.35delG в гомозиготном, компаунд-гетерозиготном или единичном (гетерозиготном) состояниях выявлены у 70 больных (34.8% обследованных), из которых у 38 больных (18.9%) обнаружено две *GJB2*-мутации, а у 32 больных (15.9%) - только одна рецессивная мутация гена *GJB2* (таблица 6 и Приложения I и II, соответственно).

У 4 русских больных, принадлежащих к двум неродственным семьям (всего обследовано 7 русских больных из пяти неродственных семей), выявлена характерная для европейцев мутация с.35delG в гомо- (2 чел.) и гетерозиготном (2 чел.) состояниях.

Подавляющая часть обследованных больных (192 из 201) представлена тувинцами и оценка патогенетического вклада мутаций гена *GJB2* в этиологию слуха у тувинцев составляет 18.8% (36/192).

Полиморфные варианты гена *GJB2*: p.V27I (с.79G>A), p.E114G (с.341A>G), p.V153I (с.457G>A), p.F191L (с.571T>C), p.I203T (с.608T>C), обнаружены у 20.4% больных (все тувинцы). Генотипы больных, имеющих различные полиморфные варианты гена *GJB2*, приведены в таблице 6 и в Приложениях I-III).

Таблица 6. Распределение генотипов по гену *GJB2*, выявленных у обследованных больных и в контрольной выборке тувинцев.

Генотипы		Общая выборка обследованных больных (этническая принадлежность) n=201	Контрольная выборка тувинцев n=121
Генотипы с двумя мутациями гена <i>GJB2</i>	p.W172C/p.W172C	17 (тув.)	-
	IVS1+1G>A/IVS1+1G>A	6 (тув.)	-
	IVS1+1G>A/p.W172C	6 (тув.)	-
	c.235delC /p.W172C	3 (тув.)	-
	c.299_300delAT/p.W172C	2 (тув.)	-
	IVS1+1G>A/c.299_300delAT	1 (тув.)	-
	p.V37I/c.235delC	1 (тув.)	-
	c.35delG/c.35delG	2 (рус.)	-
Число индивидуумов с биаллельными рецессивными мутациями <i>GJB2</i> (%)		38 (18.9%)	-
Генотипы с одной мутацией гена <i>GJB2</i>	p.V27I/ p.W172C	1 (тув.)	-
	p.W172C/wt	6 (тув.)	6
	IVS1+1G>A/p.V27I	5 (тув.)	2
	IVS1+1G>A/p.I203T	1 (тув.)	-
	IVS1+1G>A/p.V27I+p.E114G	2 (тув.)	-
	IVS1+1G>A/wt	13 (12 тув., 1 мет.)	3
	p.V37I/wt	1 (тув.)	2
	p.V27I/ p.V37I	-	1
	c.235delC/wt	1 (тув.)	-
	c.35delG/wt	2 (рус.)	-
Число индивидуумов с одной мутацией <i>GJB2</i> (%)		32 (15.9%)*	14 (11.6%)*
Общее число индивидуумов с мутациями <i>GJB2</i> (%)		70 (34.8%)	14 (11.6%)

Продолжение таблицы 6

Генотипы		Общая выборка обследованных больных (этническая принадлежность) n=201	Контрольная выборка тувинцев n=121
Генотипы с полиморфными вариантами гена <i>GJB2</i>	p.V27I/wt	20 (тув.)	21
	p.V27I+p.E114G/wt	11 (тув.)	12
	p.V27I/ p.V27I	6 (тув.)	5
	p.V27I/p.V27I+p.E114G	1 (тув.)	2
	p.V27I+p.E114G/p.F191L	1 (тув.)	-
	p.V27I/ p.F191L	1 (тув.)	-
	p.V27I+p.E114G/p.V153I	-	1
Общее число индивидуумов с полиморфными вариантами гена <i>GJB2</i> (%)		41 (20.4%)	41 (33.9%)
Нормальный генотип по гену <i>GJB2</i>	wt/wt	90 (86 тув., 3 рус., 1 мет.)	66
Общее количество обследованных		201	121

Примечание: Патогенные рецессивные мутации гена *GJB2* выделены жирным шрифтом; тув. – тувинцы, рус. – русские, мет. – смешанная этническая принадлежность. * - отсутствуют статистически значимые различия в числе индивидуумов с одной *GJB2*-мутацией между выборкой больных (для корректности сопоставления расчет производился только по тувинским больным) и контрольной выборкой тувинцев ($p=0.202$).

3.2.2. *GJB2*-генотипы в подгруппах больных

Данные клинического анамнеза больных с потерей слуха, полученные в нашем исследовании, содержали, помимо информации об аудиологическом диагнозе пациентов, и дополнительные сведения о сопутствующих внешних факторах, возможно, приведших к потере слуха. На основе наличия или отсутствия такой информации обследованные больные были подразделены на две подгруппы – I (в анамнезе нет указаний на средовые факторы) и II (есть указания на возможное воздействие средовых факторов). Распределение полученных генотипов по гену *GJB2* в подгруппах I и II приведено в таблице 7. Между этими подгруппами больных обнаружены статистически значимые ($p=0.0235$) различия в доле индивидуумов с двумя *GJB2*-мутациями (22.4% и 9.3% в подгруппах I и II, соответственно), в то время как в доле индивидуумов с одной *GJB2*-мутацией (15.0% и 18.5% в подгруппах I и II, соответственно) значимых различий не наблюдалось ($p=0.340$) (таблица 7).

Таблица 7. Распределение *GJB2*-генотипов, выявленных в подгруппах I и II обследованных больных.

Генотипы		Обследованные больные		
		Общая выборка больных n=201	Подгруппа I n=147	Подгруппа II n=54
Генотипы с двумя мутациями гена <i>GJB2</i>	p.W172C/p.W172C	17	17	-
	IVS1+1G>A/IVS1+1G>A	6	4	2
	IVS1+1G>A/p.W172C	6	4	2
	c.235delC /p.W172C	3	3	-
	c.299_300delAT/p.W172C	2	2	-
	IVS1+1G>A/c.299_300delAT	1	-	1
	p.V37I/c.235delC	1	1	-
	c.35delG/c.35delG	2	2	-
Число больных с двумя мутациями <i>GJB2</i> (%)		38 (18.9%)	33 (22.4%) *	5 (9.3%) *
Генотипы с одной мутацией гена <i>GJB2</i>	p.V27I/ p.W172C	1	-	1
	p.W172C/wt	6	5	1
	IVS1+1G>A/p.V27I	5	3	2
	IVS1+1G>A/p.I203T	1	1	-
	IVS1+1G>A/p.V27I+p.E114G	2	1	1
	IVS1+1G>A/wt	13	8	5
	p.V37I/wt	1	1	-
	c.235delC/wt	1	1	-
	c.35delG/wt	2	2	-
Число больных с одной мутацией <i>GJB2</i> (%)		32 (15.9%)	22 (15.0%) #	10 (18.5%) #
Общее число больных с мутациями <i>GJB2</i> (%)		70 (34.8%)	55 (37.4%)	15 (27.8%)
Общее число индивидуумов с полиморфными вариантами и нормальным генотипом по гену <i>GJB2</i>		131 (65.2%)	92 (62.6%)	39 (72.2%)

Примечание: Подгруппа I - больные без каких-либо указаний в анамнезе на предполагаемый средовой этиологический фактор потери слуха, подгруппа II – больные, у которых в анамнезе такие указания есть (см. в тексте). Рецессивные мутации гена *GJB2* выделены жирным шрифтом; * - различия между сравниваемыми подгруппами I и II в числе больных с двумя *GJB2*-мутациями статистически значимы ($p=0.0235$); # - отсутствуют статистически значимые различия между подгруппами I и II в числе больных с одной *GJB2*-мутацией ($p=0.340$).

3.2.3. Мутационный спектр гена *GJB2* в исследованной выборке больных

У обследованных тувинских пациентов (n=192) рецессивные мутации гена *GJB2* были выявлены у 65 больных (у 36 больных в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии и у 29 больных присутствовала только 1 копия какой-либо рецессивной *GJB2*-мутации в сочетании с аллелем wt или полиморфным вариантом).

Мутационный спектр гена *GJB2* у тувинских больных представлен пятью рецессивными мутациями - p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC, p.V37I и c.299_300delAT, среди которых преобладают мутации p.W172C и IVS1+1G>A: доля p.W172C среди всех мутантных хромосом обследованных тувинских пациентов (n=101) составляет 51.49%, IVS1+1G>A - 38.61%, а доля мутаций c.235delC, p.V37I, c.299_300delAT - 4.95%, 2.97% и 1.98%, соответственно (рисунок 8).

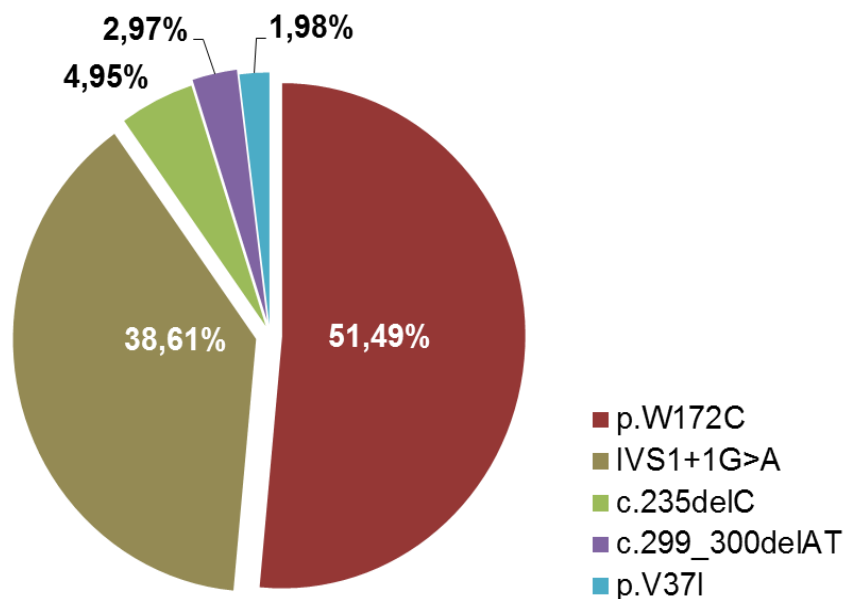


Рисунок 8. Спектр рецессивных мутаций гена *GJB2*, выявленных у тувинских пациентов, и их относительная доля среди всех мутантных *GJB2*-аллелей.

Мутация p.W172C. Мутация p.W172C (с.516G>C) превалирует у тувинских пациентов. Несинонимичная однонуклеотидная замена гуанина на цитозин в позиции 516 последовательности кодирующей области гена *GJB2* (с.516G>C) приводит к замене триптофана на цистеин (p.W172C) во втором внеклеточном домене белка коннексина 26 (Cx26) (рисунок 9 А, Б).

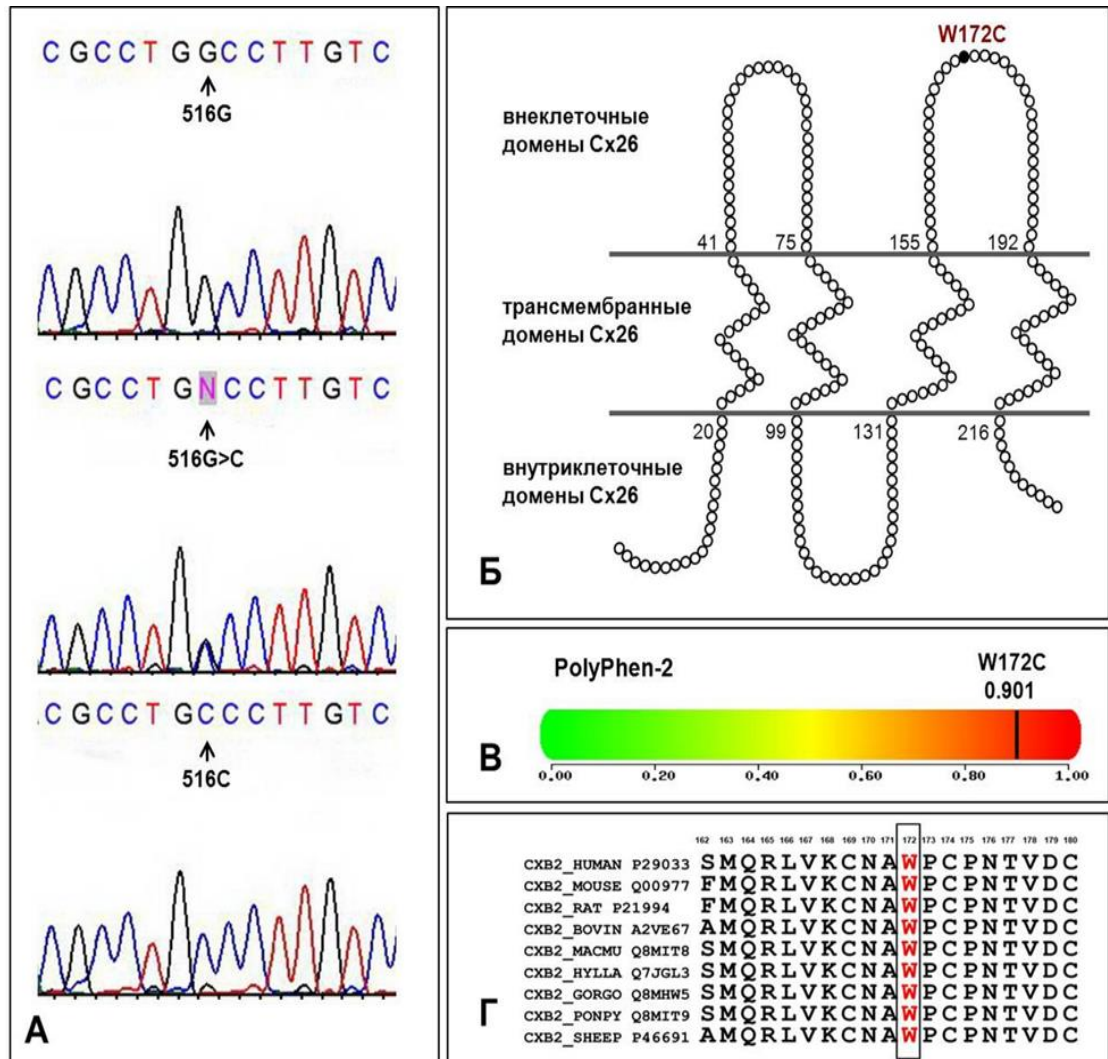


Рисунок 9. Мутация p.W172C (с.516G>C) в гене *GJB2* (Cx26).

А. Секвенограммы фрагмента гена *GJB2* (сверху вниз): гомозигота wt/wt; гетерозигота с.516G>C/wt; гомозигота с.516G>C/с.516G>C. **Б.** Схематичное представление аминокислотной последовательности коннексина 26 (Cx26) с мутацией p.W172C. **В.** Мутация p.W172C классифицирована с помощью программы PolyPhen2 как «возможно повреждающая» (PolyPhen2 score = 0.901). **Г.** Выравнивание аминокислотных последовательностей коннексинов у разных организмов.

С помощью программы PolyPhen2, согласно используемой модели HumVar [Adzhubei et al., 2010], позволяющей различать мутации со значительным повреждающим эффектом и остальную вариабельность генома человека, включая «слабо-повреждающие» аллели, мутация p.W172C (с.516G>C) была классифицирована как “probably deleterious” («возможно повреждающая», PolyPhen2 score = 0.901) (рисунок 9 В). Выравнивание аминокислотных последовательностей коннексинов у разных организмов выявило высокую консервативность триптофана в 172 аминокислотной позиции Сх26 (рисунок 9 Г).

Впервые, эта мутация (в компаунд-гетерозиготном состоянии с рецессивной мутацией с.235delC), на первом этапе исследований наследственной глухоты в Республике Алтай, была обнаружена у одного пациента-алтайца [Posukh et al., 2005]. В работе [Tekin et al., 2010] сообщается о наблюдении этой мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии у глухого пациента из Монголии [Tekin et al., 2010]. При дальнейшем изучении наследственной глухоты в Республике Алтай на расширенной выборке пациентов алтайцев было подтверждено присутствие этой мутации на территории Горного Алтая, граничащего с Республикой Тыва (О.Л. Посух, неопубликованные данные). Сведения о мутации p.W172C в других регионах мира на сегодняшний момент в литературе отсутствуют.

Секвенограммы других рецессивных мутаций: IVS1+1G>A (с.-23+1G>A), с.235delC, 109G>A (p.V37I), с.299_300delAT и наиболее частых полиморфных вариантов 79G>A (p.V27I) и 341A>G (p.E114G), выявленных у тувинских пациентов, представлены на рисунке 10.

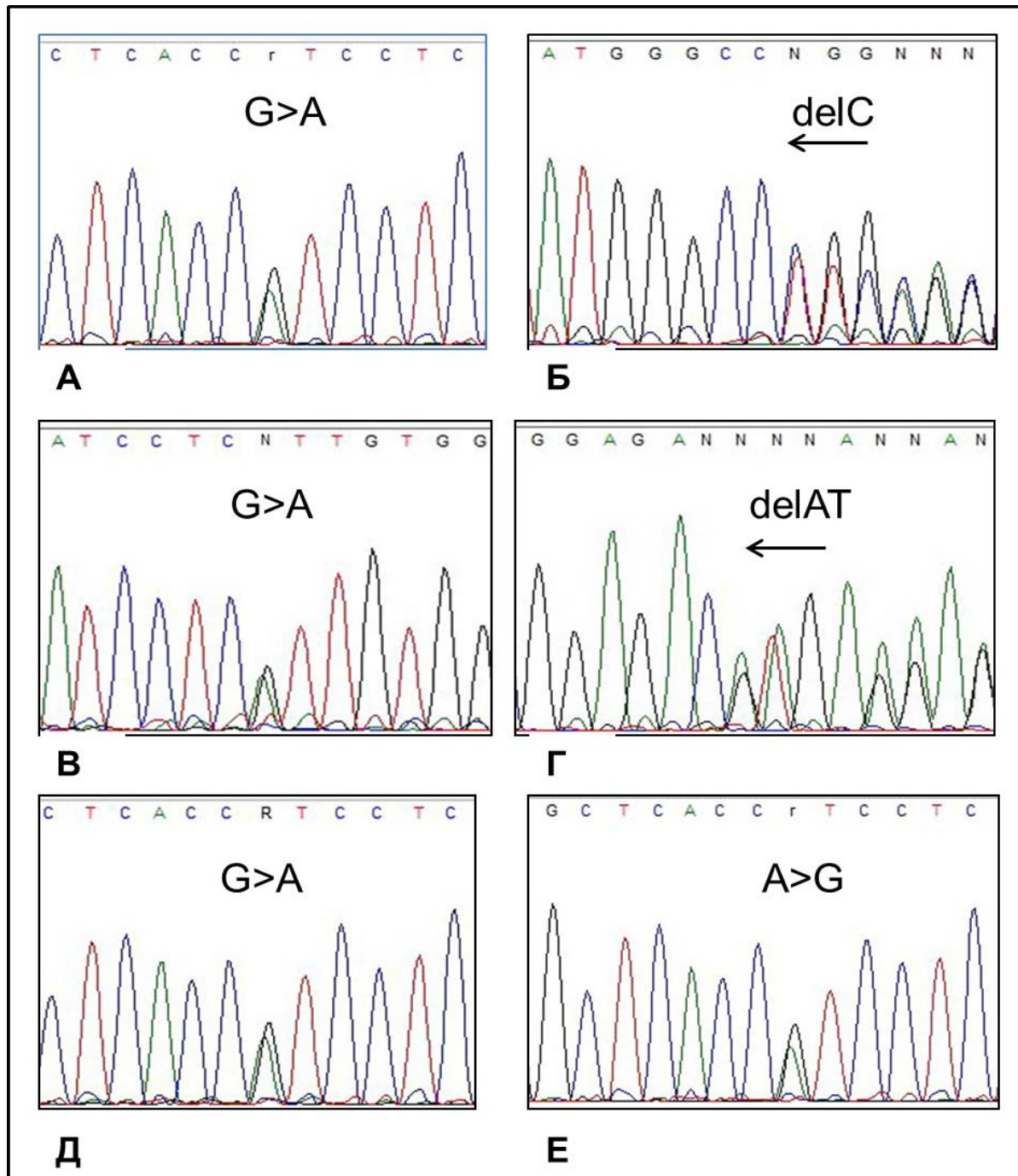


Рисунок 10. Секвенограммы фрагментов гена *GJB2* с выявленными вариациями нуклеотидной последовательности.

А. Мутация с.-23+1G>A (IVS1+1G>A).

Б. Мутация с.235delC.

В. Мутация 109G>A (p.V37I).

Г. Мутация с.299_300delAT.

Д. Полиморфный вариант 79G>A (p.V27I).

Е. Полиморфный вариант 341A>G (p.E114G).

3.2.4. Частота мутаций гена *GJB2* у тувинских больных и в контрольной выборке тувинцев

В таблице 8 представлены частоты мутаций и полиморфных вариантов гена *GJB2* в выборке тувинских больных и в контрольной выборке несвязанных родством тувинцев.

Таблица 8. Частоты мутаций и полиморфных вариантов гена *GJB2* у тувинских больных и в контрольной выборке тувинцев.

Мутация / полиморфный вариант	Число мутантных аллелей у 192 тувинских больных (у 167 неродственных больных)	Частота мутантного аллеля у 192 тувинских больных (у 167 неродственных больных)	Число мутантных аллелей в контрольной выборке тувинцев (n=121)	Частота мутантного аллеля в контрольной выборке тувинцев (n=121)
p.W172C	52 (44)	0.135 * (0.132 *)	6	0.025 *
IVS1+1G>A	39 (36)	0.102 ** (0.108 **)	5	0.021 **
c.235delC	5 (5)	0.013 (0.015)	-	-
c.299_300delAT	3 (2)	0.008 (0.006)	-	-
p.V37I	2 (2)	0.005 (0.006)	3	0.012
Всего мутантных хромосом	101 (89)	0.263 (0.266)	14	0.058
p.V27I	40 (38)	0.104 (0.114)	36	0.149
p.V27I+p.E114G	15 (12)	0.039 (0.036)	15	0.062
p.I203T	1 (1)	0.003 (0.003)	-	-
p.F191L	2 (2)	0.005 (0.006)	-	-
p.V153I	1 (1)	0.003 (0.003)	1	0.004
Всего хромосом	384 (334)		242	

Примечание: рецессивные мутации гена *GJB2* выделены жирным шрифтом;

* - статистически значимые различия в частоте мутации p.W172C между выборкой больных и контрольной выборкой тувинцев ($p < 10^{-4}$); ** - статистически значимые различия в частоте мутации IVS1+1G>A между выборкой больных и контрольной выборкой тувинцев ($p < 10^{-4}$).

Для исключения возможного смещения оценок частоты мутаций в общей выборке тувинских больных за счет присутствия в ней некоторого числа родственных индивидов, была сформирована выборка неродственных больных (167 чел.). Статистически значимые различия между выборкой неродственных тувинских больных и контрольной выборкой тувинцев получены для мутаций p.W172C – 0.132 и 0.025, соответственно ($p < 10^{-4}$) и IVS1+1G>A – 0.108 и 0,021, соответственно ($p < 10^{-4}$) (таблица 8).

3.2.5. Частота гетерозиготного носительства мутаций гена *GJB2* в контрольной выборке тувинцев

В контрольной выборке тувинцев (n=121) обнаружено 14 индивидуумов, гетерозиготных по рецессивным *GJB2*-мутациям: p.W172C (6 чел.), IVS1+1G>A (5 чел.), и p.V37I (3 чел.) (таблица 8). Кроме того, у значительной части тувинцев были выявлены полиморфные варианты гена *GJB2* (p.V27I, p.E114G, p.V153I и p.F191L), характерные для азиатских регионов [Dai et al., 2009; Liu et al., 2002; Ohtsuka et al., 2003; Park et al., 2000]. Суммарная частота гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2* в изученной выборке тувинцев составила 11.57% (14/121), в том числе: p.W172C - 4.96% (6/121), с.IVS1+1G>A – 4.13% (5/121) и p.V37I – 2.48% (3/121). Трое из пяти индивидуумов, указавших при опросе на некоторое снижение слуха, но не состоявших на сурдологическом учете, оказались гетерозиготными по мутациям p.W172C, IVS1+1G>A и p.V37I. Индивидуум с генотипом p.W172C/wt (1956 г.р.) предполагает, что снижение слуха у него, возникшее во взрослом состоянии, обусловлено гипертонической болезнью. Индивидуум с генотипом IVS1+1G>A/p.V27I (1973 г.р.) связывает ухудшение слуха с заболеванием, перенесенным в возрасте семи лет, а индивидуум с генотипом p.V37I/wt (1980 г.р.) – с полученной во взрослом состоянии травмой.

При сопоставлении доли индивидуумов, гетерозиготных по мутациям *GJB2*, в выборке больных (для корректности сопоставления расчет

проводился только по тувинским больным) и в контрольной выборке тувинцев статистически значимых различий не наблюдалось ($p=0.2019$) (таблица 6). Кроме того, распределение генотипов, выявленных в популяционной выборке тувинцев, соответствует равновесию Харди-Вайнберга.

В Республике Тыва, в результате молекулярно-генетического исследования выборки больных с несиндромальной тугоухостью тяжелой степени/глухотой, включающей 201 чел., у 70 больных (34.8%), выявлены мутации гена *GJB2*. У 38 больных (18.9%) были обнаружены биаллельные рецессивные *GJB2*-мутации в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии, а у 32 больных (15.9%) – выявлена одна рецессивная мутация гена *GJB2*.

Поскольку подавляющее число больных (192 чел.) представлено тувинцами, то оценка патогенетического вклада мутаций гена *GJB2* в этиологию слуха у представителей коренного населения Республики Тыва составила 18.8% (36/192).

Мутационный спектр гена *GJB2* у тувинских больных представлен пятью рецессивными мутациями - p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC, p.V37I и c.299_300delAT, среди которых преобладают мутации p.W172C (51.49%) и IVS1+1G>A (38.61%). У значительной части тувинцев в обследуемой выборке больных и в контрольной выборке тувинцев были выявлены полиморфные варианты гена *GJB2* (p.V27I, p.E114G, p.V153I и p.F191L), характерные для азиатских регионов.

Суммарная частота гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2* в контрольной выборке тувинцев составила 11.57% (14/121), в том числе мутаций: p.W172C - 4.96% (6/121), c.IVS1+1G>A - 4.13% (5/121) и p.V37I – 2.48% (3/121).

3.3. Анализ социо-демографических параметров, брачного статуса / брачной структуры, параметров репродукции и степени социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва

Для многих моногенных заболеваний, в том числе и для некоторых форм наследственной потери слуха, установлено, что их «накопление» в той или иной популяции определяется такими факторами как этнический и половозрастной состав населения, изоляция, доля близкородственных браков, эффекты основателя и «бутылочного горлышка» [Groce, 1985; Scott et al., 1995; Winata et al., 1995; Van Laer et al., 2001; RamShankar et al., 2003; Ben Arab et al., 2004; Lezirovitz et al., 2008; Sirmaci., 2009; Barashkov et al., 2011 и др.].

Рядом исследователей была предложена гипотеза о том, что на широкую распространенность глухоты, обусловленной мутациями гена *GJB2*, в отличие от большинства моногенных заболеваний, могли повлиять и определенные социальные факторы: существующая в ряде регионов мира долговременная традиция заключения ассортативных браков между глухими людьми (выбор брачного партнера по патологическому фенотипу), в сочетании с ростом их социальной адаптации и биологической приспособленности (genetic fitness) [Nance et al., 2000; Nance, 2003; Nance, Kearsey, 2004].

В данном разделе приведены результаты анализа социо-демографических параметров, брачного статуса и брачной структуры, параметров репродукции и степени социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва.

3.3.1. Брачный статус и брачная структура глухих людей в Республике Тыва

Сведения о брачном статусе и брачной структуре людей с потерей слуха получены, в основном, из данных персонального и

специализированного (социологического) анкетирования глухих индивидуумов, опроса родственников и дополнены соответствующими данными из регионального отделения Всероссийского общества глухих (ВОГ) и бюро медико-социальной экспертизы (МСЭ) Республики Тыва.

Соответствующая информация получена для 456 индивидуумов с тяжелой потерей слуха в возрасте от 19 до 86 лет (средний возраст 39.6 ± 0.7). По этнической принадлежности анализируемая выборка представлена преимущественно тувинцами (379 чел.), кроме того, в нее входят русские - 42 чел., другие национальности - 4 чел., и для 31 человека этническая принадлежность не определена. Для 335 человек (более 70%) известно, что потеря слуха у них возникла с рождения или в раннем детском возрасте.

В таблице 9 приведены демографические характеристики, брачный статус и структура браков глухих людей в Республике Тыва. 235 обследованных (51.5%) проживает в г.Кызыле, а в сельских районах Республики Тыва - 221 чел. (48.5%). 127 человек (27.9% от общего числа глухих людей), в возрасте от 19 до 74 лет (средний возраст 30.3 ± 1.0), не состояли в брачных отношениях на момент исследования, из них 59 человек проживает в городе Кызыле, 68 – в сельской местности, женщин – 74, мужчин – 53. Молодые люди (в возрасте от 19 до 22 лет) составляют 28.3% (36 чел.), из них лиц мужского пола – 23, женского пола – 13; группа индивидуумов репродуктивного возраста (23-40 лет) – 56.7% (72 чел.), из них мужчин – 24, женщин – 48; и группа старшего возраста (> 40 лет) – 15% (19 чел.), из них мужчин – 7, женщин – 12.

Таблица 9. Демографические характеристики, брачный статус и структура браков глухих людей в Республике Тыва.

	Всего	г.Кызыл	Сельские районы
Всего глухих людей (%, доля от общего числа глухих), из них:	456	235 (51.5%)	221 (48.5%)
женщины (%)	244 (53.5%)	130 (55.4%)	114 (51.6%)
мужчины (%)	212 (46.5%)	105 (44.6%)	107 (48.4%)
Состоящие в браке (329 чел., 72.1%)			
Число глухих людей, состоящих в браке (%, доля из общего числа состоящих в браке)*	329	176 (53.5%)	153 (46.5%)
Общее число браков, из них:	200	103 (51.5%)	97 (48.5%)
браки «ГЛ х ГЛ» (%, доля от общего числа браков)	129 (64.5%)	73 (70.9%) **	56 (57.7%) **
браки «ГЛ х Н» (%, доля от общего числа браков), из них:	71 (35.5%)	30 (29.1%)	41 (42.3%)
жена (ГЛ) х муж (Н) (%)	42 (59.2%)	20 (66.7%)	22 (53.7%)
жена (Н) х муж (ГЛ) (%)	29 (40.8%)	10 (33.3%)	19 (46.3%)
Не состоящие в браке (127 чел., 27.9%)			
Число глухих людей, не состоящих в браке (%, доля от общего числа глухих), из них:	127	59 (46.5%)	68 (53.5%)
женщины (%)	74 (58.3%)	38 (64.4%)	36 (52.9%)
мужчины (%)	53 (41.7%)	21 (35.6%)	32 (47.1%)

* - включены также вдовы и вдовцы. Браки «ГЛ х ГЛ» - браки между глухими людьми; браки «ГЛ х Н» - браки между глухими и нормально слышащими людьми. ** - статистически значимые различия ($p=0.036$, точный тест Фишера).

3.3.2. Анализ структуры браков глухих людей

Из общей выборки, составляющей 456 чел., в брачных отношениях состояли 329 человек (72.1%). В эту категорию были также включены вдовы и вдовцы. Всего проанализировано 200 браков (часть браков реконструирована на основе анализа родословных индивидуумов с потерей слуха), из которых 103 (51.5%) брака относятся к г.Кызылу и 97 браков (48.5%) - к сельским районам (таблица 9).

На основании наличия или отсутствия нарушений слуха у брачных партнеров, браки индивидуумов с потерей слуха были подразделены на два типа: 1) браки, где оба брачных партнера имеют потерю слуха (тип брака «ГЛ x ГЛ» - 64.5%) и 2) браки, где только один из супругов имеет патологию слуха, а у другого – слух нормальный (тип брака «ГЛ x Н» - 35.5%) (таблица 9).

Доля браков «ГЛ x ГЛ» характеризует степень брачной ассортативности по патологическому фенотипу – отсутствию слуха. В целом, в Республике Тыва ассортативность браков между глухими людьми составляет 64.5%, однако, в г.Кызыле этот показатель (70.9%) статистически значимо выше, чем в сельских районах Республики (57.7%) ($p=0.036$) (таблица 9).

В свою очередь, доля браков между глухими и слышащими брачными партнерами (тип браков «ГЛ x Н») в сельских районах (42.3%) достоверно выше, чем в городе (29.1%). Браки «ГЛ x Н» были также проанализированы для выяснения предпочтений выбора нормально слышащего брачного партнера в зависимости от пола. Доля браков между глухими женщинами и нормально слышащими мужчинами (59.2%), в целом, превышает долю браков между глухими мужчинами и женщинами с нормальным слухом (40.8%), и эта тенденция более выражена в городе (66.7%), чем в сельских районах (53.7%). Эти факты свидетельствуют о том, что женщины с потерей слуха, вероятно, имеют больше шансов найти брачного партнера с

нормальным слухом, чем глухие мужчины, особенно в сельских районах, где концентрация глухих людей в отдельных поселках и районах существенно ниже, чем в городе.

По национальной принадлежности супругов, относящихся к бракам типа «ГЛ х ГЛ», значительную долю составляют однонациональные тувинские браки – 63.3%, браки между русскими составили 10.1%, смешанные браки между тувинцами и русскими – 5.4%, между тувинцами и представителями других национальностей – 3.1% и в 17.8% браках этническая принадлежность одного из супругов (или обоих) не установлена. Анализ этнической принадлежности супругов в типах браков «ГЛ х Н» показал, что на долю однонациональных тувинских браков приходится 64.8%, доля однонациональных браков между русскими составила 2.8 % (2 брака) и в 32.4% семей этническая принадлежность нормально слышащего супруга не была установлена.

3.3.3. Анализ репродукции глухих людей

Фертильность (репродуктивный потенциал) является важной мерой биологической (генетической) приспособленности индивида (genetic fitness). Наиболее доступной оценкой биологической (генетической) приспособленности анализируемой группы индивидов (или определенных генотипов) является отношение среднего числа детей у представителей анализируемой группы к такому показателю в контрольной выборке.

На первом этапе работы анализировалось среднее число детей в выборке глухих индивидуумов. Основными критериями для выборки анализируемых глухих индивидов были: возраст старше 35 лет, наличие информации о брачном статусе и полнота информации о репродукции. Ранее, в работе по изучению генетико-демографических характеристик населения Республики Тыва, на примере четырех территориально разобщенных субпопуляций, было показано, что начало репродуктивно активного периода у женщин (возраст рождения первого ребенка), соответствует, в среднем,

возрасту 22 года, а завершение репродуктивного периода (возраст рождения последнего ребенка) соответствует возрасту от 33 до 38 лет [Кучер и др., 1999 а,б]. В немногочисленных работах по оценке репродуктивных параметров глухих людей анализировались индивидуумы старше 35 лет [Blanton et al., 2010; Tekin et al., 2010].

Таким образом, на основании описанных выше критериев, была сформирована выборка глухих людей, включающая 229 человек старше 35 лет, состоящих в браке (118 женщин и 111 мужчин) (таблица 10).

Таблица 10. Сравнительная характеристика репродуктивных параметров больных с потерей слуха и их здоровых сибсов (родных братьев и сестер).

	Больные с потерей слуха			Сибсы с нормальным слухом (контрольная выборка)		
	женщины	мужчины	всего	женщины	мужчины	всего
Число людей, состоящих в браке	118	111	229	135	103	238
Среднее число детей (число всех детей)	2.20±0.08 (260)	2.32±0.08 (248)	2.26±0.06 (508)	2.25±0.06 (307)	2.57±0.01 (288)	2.40±0.05 (595)
Относительная фертильность	0.98	0.87	0.93			

Этнический состав данной выборки: тувинцы – 82.1% (188 чел.), русские – 11.4% (26 чел.), украинцы – 0.9% (2 чел.) и у 5.6% (13 чел.) этническая принадлежность не установлена. Данные о репродукции получены на основе индивидуального опроса глухих и их родственников и анализа родословных. Для сравнительной оценки репродукции людей с потерей слуха были также получены соответствующие данные для их родных братьев и сестер (сибсов). В подобных исследованиях, анализ ряда параметров у больных индивидуумов часто проводится в сравнении с их родными братьями и сестрами, поскольку их объединяет общий уклад семьи, характер

воспитания, социальный статус, общность генотипов и многое другое. Таким образом, с целью сравнительного анализа репродуктивных параметров людей с потерей слуха и индивидуумов с нормальным слухом была сформирована выборка из 135 женщин и 103 мужчин с нормальным слухом, являющихся родными сестрами и братьями глухих людей, выступившая в качестве контрольной группы (таблица 10).

Среднее число детей у глухих женщин - 2.20 ± 0.08 (от 0 до 6 детей), у глухих мужчин - 2.32 ± 0.08 (от 0 до 7 детей) и в целом для выборки глухих индивидуумов - 2.26 ± 0.06 (от 0 до 7 детей). При попарном сравнении выборок глухих и здоровых женщин, глухих и здоровых мужчин и общих выборок глухих и здоровых индивидуумов все эти показатели у глухих людей были ниже, но различия не являлись статистически значимыми ($p=0.799$, $p=0.144$ и $p=0.209$, соответственно). Возможно, сниженные репродуктивные показатели глухих людей, отчасти, обусловлены большей долей бездетных индивидуумов в выборке глухих, число которых составило 19 чел. (8.3%), тогда как в контрольной выборке выявлено только 5 бездетных индивидуумов (2.1%).

Показатель относительной фертильности индивидуумов с потерей слуха, рассчитанный как отношение среднего числа детей у глухих индивидуумов к среднему числу детей у индивидуумов из контрольной выборки, оказался достаточно высоким (0.93), что свидетельствует о том, что глухие люди в одинаковой степени со своими здоровыми сибсами смогли реализовать свой репродуктивный потенциал. При сравнении относительной фертильности глухих женщин и мужчин, этот показатель у мужчин был несколько ниже по сравнению с женщинами (0.87 и 0.98, соответственно) (таблица 10).

На следующем этапе анализа, репродукция глухих людей в Республике Тыва была проанализирована в зависимости от типа брака, определяемого статусом по слуху у брачных партнеров: браки между глухими людьми («ГЛ

х ГЛ», 101 брак) и браки, где только один из брачных партнеров был глухим («ГЛ х Н», 38 браков) (таблица 11).

Среднее число детей в браках типа «ГЛ х ГЛ» составляет 2.14 ± 0.08 (с вариацией числа детей от 0 до 5), что ниже соответствующего показателя в браках типа «ГЛ х Н» (2.50 ± 0.16 , от 0 до 7 детей в браке), но различия не являются статистически значимыми ($p=0.146$). Тем не менее, наблюдается тенденция к снижению среднего числа детей в категории браков «ГЛ х ГЛ» по сравнению с браками «ГЛ х Н»: у женщин - 2.18 ± 0.08 и 2.27 ± 0.17 , соответственно, а у мужчин различия более выражены и достигают статистически значимых значений (2.14 ± 0.08 и 3.0 ± 0.31 , соответственно, $p=0.032$) (таблица 11).

Таблица 11. Параметры репродукции глухих людей в зависимости от типа брака.

Тип брака	Среднее число детей		
	на брак	на женщину / мужчину *	
«ГЛ х ГЛ» (N=101)	2.14 ± 0.08 (0-5)	женщины (n=92)	2.18 ± 0.08 (0-5)
		мужчины (n=99)	2.14 ± 0.08 ** (0-5)
«ГЛ х Н» (N=38)	2.50 ± 0.16 (0-7)	женщины (n=26)	2.27 ± 0.17 (1-6)
		мужчины (n=12)	3.0 ± 0.31 ** (0-7)

Примечание: *- Учитывались все дети, рожденные, в том числе, в повторных браках; ** $p=0.032$.

Таким образом, анализ одного из наиболее значимых параметров репродукции – среднего числа детей, у глухих людей в Республике Тыва выявил следующие тенденции: (1) среднее число детей у глухих, состоящих в браке (2.26 ± 0.06), ниже по сравнению с аналогичным показателем в контрольной выборке нормально слышащих индивидов (2.40 ± 0.05), и, хотя эти различия не являются статистически значимыми, но они отразились в

незначительном снижении биологической приспособленности глухих (0.93) по сравнению со здоровыми индивидами; (2) среднее число детей в браках между глухими брачными партнерами (2.14 ± 0.08) снижено по сравнению с браками, где один из брачных партнеров глухой, а другой слышащий (2.50 ± 0.16) и эта тенденция наиболее выражена в браках, где муж – глухой, а жена – слышащая.

Следует заметить, что строгий статистический анализ подобного рода данных ограничен рядом допущений, обусловленных как сложностью получения исчерпывающих первичных данных у глухих людей при отсутствии слышащих родственников или сурдопереводчика, так и возможными погрешностями самого анализа, возникающими, например, вследствие менее строгого возрастного критерия (старше 35 лет), применяемого для формирования контрольной выборки родных братьев и сестер глухих индивидуумов, существенных различий в возрасте супругов в ряде анализируемых браков, и объективно меньшим числом браков между глухими и слышащими людьми по сравнению с числом браков между глухими людьми (см. раздел «Брачный статус и брачная структура»).

3.3.4. Оценка социального статуса людей с тяжелой потерей слуха в Республике Тыва

Данные для оценки социального статуса людей с тяжелой потерей слуха в Республике Тыва были получены и обобщены на основе специально разработанных анкет, заполненных респондентами самостоятельно и (или) с помощью родственников и сотрудников РО ВОГ. В анкете сформулированы блоки вопросов, позволяющих получить информативные данные о возрасте, месте рождения, национальности, брачном статусе, времени возникновения нарушений слуха, самооценке степени потери слуха, образовании, трудозанятости, материальном положении, типах коммуникации, степени владения жестовым языком и(или) речью. Ряд вопросов позволяет также

оценить психоэмоциональное состояние глухих людей и их взаимоотношения с обществом.

Исследованием охвачено 118 человек в возрасте от 19 до 63 лет (средний возраст 35.1 ± 1.3) (мужчины - 44, женщины - 74), что составило около 17% от числа всех людей с тяжелой потерей слуха старше 19 лет, зарегистрированных в Республике Тыва (683 чел.). Подавляющее большинство (89.8%) респондентов являются тувинцами (106 чел.). В г.Кызыле проживают 53 респондента (44.9%), в сельской местности - 65 (55.1%).

Наряду с медицинским заключением о степени потери слуха, были получены данные о самооценке респондентами состояния их слуха. 64% (75 чел.) опрошенных, по их мнению, «совсем не слышат», 15% (18 чел.) слышат при помощи слухового аппарата и 21% (25 чел.) слышат только громкую речь. По мнению 44% анкетированных, причиной потери слуха у них явилась болезнь, у 5% - травмы, 28% ответили, что «родились глухими», остальные - затруднились назвать предполагаемую причину потери слуха.

По уровню образования респонденты распределились следующим образом: начальное и ниже – 6%, неполное среднее - 36%, общее среднее - 18%, среднее специальное – 36% и высшее или незаконченное высшее – 3%. Работающими на момент опроса являются 22% респондентов (в основном, рабочие специальности), учащимися - 24%, временно не работают или заняты домашним хозяйством - 9% и 7%, соответственно, пенсионерами по возрасту или состоянию здоровья - 38%. При ответах на вопросы о материальном положении, 57% опрошенных выбрало вариант ответа «приходится отказывать себе во многом, денег хватает только на самое необходимое (питание, коммунальные расходы)», 19% отметили вариант «на ежедневные расходы и покупку одежды, обуви денег хватает, но не по силам покупать товары длительного пользования» и только 3 чел. (2.5%) остановились на ответе «покупка большинства товаров длительного пользования не вызывает трудностей, ничем себя не ограничиваю».

Одним из важных показателей, характеризующих социальную адаптацию глухих людей, является способ их коммуникации. У подавляющего числа респондентов потеря слуха является врожденной или возникла в раннем детском возрасте (долингвальная потеря слуха) и в этом случае развитие речи невозможно без дополнительной стимуляции с помощью специального обучения. Для анализа типов и средств коммуникации глухих людей было сформулировано несколько блоков вопросов, позволяющих охарактеризовать особенности их общения со слышащими людьми и с людьми, страдающими потерей слуха.

Основным способом общения с неслышащими или слабослышащими почти у всех анкетированных (114 из 118 респондентов, 96.6%) является жестовый язык (или жесты и речь), которому они обучились в специализированной школе (83.9%), с помощью родных и знакомых (12.7%) или самостоятельно (1.7%). При характеристике своих способов коммуникации с нормально слышащими людьми большинство анкетированных (78%) указало на использование жестов, как единственного способа коммуникации, так и в сочетании с другими вариантами ответов «понимаю по губам собеседника», «могу немного говорить», «письменно», «с помощью других людей». Кроме того, для общения как с глухими, так и слышащими людьми, 83% респондентов использует сотовые телефоны в виде СМС-сообщений. Подавляющее большинство респондентов (> 90%) указало, что им легче общаться с неслышащими людьми, тогда как при общении с людьми с нормальным слухом основными проблемами являются трудности взаимопонимания. Кроме того, около 30% анкетированных придерживается тезиса «у нас (неслышащих) – «свой мир»: общие интересы, проблемы, у них (слышащих) – «другой мир».

Ряд вопросов в анкете посвящены выяснению психоэмоционального состояния неслышащих или слабослышащих людей в связи с их потерей слуха. На вопрос «как Вы считаете, глухота или плохой слух - это недостаток для человека?» - 76% опрошенных ответили утвердительно, 8% - не

согласились с этим утверждением, 16% – затруднились с ответом или не ответили на этот вопрос. 68% респондентов считают, что отсутствие слуха негативно отразилось на возможностях выбора работы и низком материальном положении, однако, 32% опрошенных уверены, что отсутствие у них слуха не повлияло на выбор работы и «всё зависит от личных качеств и усилий».

В оценке отношения к ним окружающих людей с нормальным слухом, мнения анкетированных распределились следующим образом: 64% считают, что окружающие, в целом, «относятся нормально и не обращают внимания на отсутствие у них слуха», 18% думают, что слышащие люди относятся к ним «с сочувствием, состраданием» и только около 9% респондентов отметили негативное (пренебрежительное, презрительное, подозрительное) отношение или чувство страха со стороны окружающих.

В анкете фигурировали вопросы, касающиеся отношения респондентов к межнациональным бракам. 47% анкетированных высказали положительное отношение к межнациональным бракам, 8% относятся к межнациональным бракам негативно и 45% респондентов затруднилось ответить на этот вопрос.

45 из 118 (38%) интервьюированных индивидуумов с потерей слуха (27 женщин и 18 мужчин) в возрасте от 18 до 46 лет (в основном, молодых людей - средний возраст 23.2 ± 1.1 года) не состояли в браке на момент исследования. Несколько вопросов в анкете были связаны с выяснением отношения глухих индивидуумов, не состоящих в браке, к состоянию слуха будущего супруга и детей. Более половины (55%) респондентов (22 из 40 ответивших на вопрос о слухе будущего супруга/супруги) выразили свое предпочтение иметь слышащего партнера в будущем браке, 15% - хотели бы иметь глухого брачного партнера и для 30% - состояние слуха у будущего супруга не являлось важным. Что касается отношения к слуху у будущих детей, то 31 из 42 (74%) ответивших на этот вопрос хотели бы, чтобы их дети, в отличие от них, имели нормальный слух, для 24%

респондентов было неважно - какой слух будет у будущих детей, и только один человек выбрал вариант «хотелось бы, чтобы мои дети, также как и я, были неслышащими».

Впервые получены социо-демографические и психосоциальные характеристики сообщества глухих людей в Республике Тыва, позволившие выяснить особенности брачной структуры людей с потерей слуха, оценить уровень их биологической приспособленности (параметры репродукции) и степень социальной адаптации и консолидации. Исследованием было охвачено 456 чел., имеющих в большинстве случаев врожденную или возникшую в раннем детском возрасте тяжелую потерю слуха различной этиологии.

Анализ брачного статуса и брачной структуры показал, что 72.1% обследованных состоят в брачных отношениях, а степень ассортативности браков между глухими людьми, составляя в среднем 64.5%, статистически значимо различается между городским (70.9%) и сельским населением (57.7%) Республики Тыва. Анализ параметров репродукции людей с потерей слуха выявил тенденцию к некоторому снижению среднего числа детей у глухих индивидуумов (2.26 ± 0.06) по сравнению с контрольной выборкой (2.40 ± 0.05), в качестве которой анализировались их нормально слышащие родные братья и сестры (сибсы), хотя статистически значимых различий по этому параметру не было выявлено. Среднее число детей в браках между глухими брачными партнерами (2.14 ± 0.08) снижено по сравнению с браками, где только один из брачных партнеров глухой (2.50 ± 0.16), и эта тенденция наиболее выражена в браках, где муж – глухой, а жена – слышащая.

Анализ результатов специализированного анкетирования показал, что подавляющее большинство респондентов обучалось в специализированных школах для глухих и слабослышащих, где ими был освоен жестовый язык,

являющийся для них преобладающим способом коммуникации. Отсутствие слуха рассматривается большинством респондентов как серьезный недостаток, ограничивающий возможности получения образования и трудоустройства, снижающий их уровень жизни и социальный статус. Большинство обследованных сообщило о серьезных затруднениях и недопонимании при общении с нормально слышащими людьми и о предпочтении контактов с глухими людьми. Около 30% глухих дифференцируют окружающий социум на «мир глухих» и «мир слышащих». Тем не менее, более половины не состоящих в браке молодых людей предпочли бы иметь слышащего брачного партнера и большинство из них хотели бы иметь детей с нормальным слухом.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Эпидемиологический и сегрегационный анализ потери слуха у населения Республики Тыва

На основе аккумуляции соответствующей информации из различных источников нами была создана единая база данных о 1407 больных с различными нарушениями слуха в Республике Тыва. Суммарная распространенность тугоухости/глухоты различного генеза составила 1 на 220 жителей с вариацией по административно-территориальным районам Республики от 1 : 392 в Тандинском до 1 : 85 в Сут-Хольском районе.

Широкая вариабельность распространенности тугоухости/глухоты различной этиологии, в том числе и наследственно обусловленной, в Республике Тыва, возможно, связана с территориальной подразделенностью населения Тувы. В проведенных ранее популяционно-генетических работах по изучению различных маркерных систем была также показана внутривнутрипопуляционная изменчивость территориально удаленных субпопуляций Республики Тыва [Кучер, 2001; Степанов, 2002, Кучер и др., 2003].

Определена категория больных с социально значимыми тяжелыми нарушениями слуха (тугоухость III-IV степени и глухота) (982 больных, 69.8% от общего числа зарегистрированных в базе данных). Эти люди имеют существенные ограничения в возможностях общения и нуждаются в реабилитационных мерах и социальной поддержке. Среди этой группы преобладают больные младше 25 лет, что, возможно, связано с более полной и четкой регистрацией больных детского возраста (см. «Материалы и методы»).

Анализ типов потери слуха и этиологических факторов, известных из анамнеза больных, позволил выявить группу из 540 больных с тяжелой НТ/Г вероятной генетической этиологии, что составило около 38% от общего

числа больных с потерей слуха, внесенных в базу данных (1407 чел.). Распространенность предположительно «генетических» форм потери слуха, в среднем, составила 1 на 573 жителя Республики Тыва.

Следует заметить, что, вероятно, это ориентировочные минимальные оценки отягощенности населения Республики Тыва патологией слуха тяжелой степени. Так, имеющиеся источники сведений о больных с потерей слуха (см. «Материалы и методы») не позволили надежно выявить синдромальные случаи потери слуха и часть случаев легкой и умеренной тугоухости у взрослых больных. Кроме того, в литературе описаны случаи, когда очевидные этиологические средовые факторы «маскировали» генетическую природу потери слуха или же потеря слуха, рассматриваемая как один из клинических признаков синдрома, имела независимое происхождение. Так, в работе [Salvador et al., 2000], описывается ситуация, когда у двух больных с врожденной глухотой, для которых этиологическим фактором потери слуха считались последствия перенесенной во время внутриутробного развития краснухи, после проведения молекулярно-генетического исследования была выявлена мутация с.167delT гена *GJB2* (Сх26) в гомозиготном состоянии [Salvador et al., 2000]. В работе [Venail et al., 2004], у двух синдромальных больных с потерей слуха (больной с синдромом Дауна и больной с микроделецией Del(22q11)) была выявлена гомозиготная мутация с.35delG гена *GJB2* (Сх26), являющаяся самой частой причиной рецессивно наследуемой НТ/Г в европейских популяциях [Venail et al., 2004]. В работе [Kenna et al., 2007], показано, что у 18% из 163 индивидуумов с нейросенсорной тугоухостью, обследованных на присутствие мутаций гена *GJB2*, кроме потери слуха, были выявлены другие клинические симптомы и аномалии развития [Kenna et al., 2007].

Ранее, в генетико-эпидемиологических исследованиях, проводимых в различных регионах России, были выявлены этнические и региональные отличия распространенности наследственных случаев потери слуха [Зинченко и др., 2003, 2007, 2009а,б, 2012а,б; Пузырев, Назаренко, 2000;

Таварткиладзе и др., 2006; Шокарев и др., 2005]. В большинстве таких работ выполнялся классический сегрегационный анализ, направленный на подтверждение определенного типа наследования потери слуха (рецессивный, доминантный, сцепленный с X-хромосомой) в анализируемых семьях с патологией, на основании которого оценивалась распространенность тугоухости различных типов наследования в исследуемых регионах.

Наследуемая НТ/Г является моногенным заболеванием с уникальной генетической гетерогенностью: в настоящее время идентифицировано около 140 генетических локусов, из которых ~ 50 локусов характеризуются аутосомно-доминантным наследованием (DFNA), ~ 80 локусов наследуются аутосомно-рецессивно (DFNB), несколько локусов сцеплено с X-хромосомой (DFNX), кроме того, в некоторых локусах находятся гены, имеющие как доминантные, так и рецессивные мутации [Van Camp, Smith, 2015]. С возникновением НТ/Г ассоциированы и некоторые мутации мтДНК [MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. <http://www.mitomap.org>. 2015]. Кроме того, различные средовые факторы могут приводить к возникновению НТ/Г, фенотипически неотличимой от наследуемых форм этой патологии. Таким образом, разнообразие генетического контроля НТ/Г и присутствие фенокopies, обусловленных средовыми факторами, ограничивают возможности классического сегрегационного анализа, наиболее эффективного в предположении единой моногенной природы анализируемого признака. Наличие двух и более генов, ответственных за анализируемый признак, до проведения соответствующих молекулярно-генетических исследований, можно оценить только косвенным образом.

Классический сегрегационный анализ, проведенный нами в семьях с патологией слуха предположительно генетической этиологии, подтвердил рецессивный тип наследования патологии только в 38 семьях «Н x Н» с двумя и более больными потомками (всего 85 больных), а сегрегационная частота

$p=0.233$ (CI=0.136-0.330), полученная при анализе 24 семей «ГЛ x Н» с предположительно доминантным наследованием НТ/Г, не соответствовала ожидаемой ($p_d=0.5$). Частоту спорадических случаев $p_s=0.270\pm 0.017$, рассчитанную для группы семей «Н x Н», вероятно, следует считать ориентировочной оценкой, поскольку долю вероятных спорадических случаев в категориях семей «ГЛ x Н» и «ГЛ x ГЛ» достаточно сложно оценить. Ранее, оценка доли спорадических случаев, варьирующая от 23.8% до 49.3%, была получена в нескольких крупномасштабных эпидемиологических исследованиях, проведенных в США в разные годы у выпускников и учащихся образовательных учреждений для глухих [Marazita et al., 1993]. В Турции, при аналогичном исследовании глухих учащихся, доля спорадических случаев составила 25.7% [Tekin, Arici, 2007]. Оценка числа спорадических случаев потери слуха может зависеть от степени полноты информации об анамнезе жизни больного (учет факторов риска), в какой-то степени быть отражением эпидемиологической ситуации по ряду инфекционных заболеваний (краснуха, цитомегаловирусная инфекция и др.) в изучаемом регионе [Marazita et al., 1993].

Результаты сегрегационного анализа и детальное изучение родословных, включающих в себя несколько различных категорий ядерных семей с потерей слуха (рисунок 7), позволили выдвинуть предположение о сложном генетическом контроле НТ/Г (по крайней мере, наличие более чем одного гена, ответственного за потерю слуха) у больных в Республике Тыва.

4.2. Мутационный спектр гена *GJB2* и оценка его патогенетического вклада в возникновение потери слуха у коренного населения Республики Тыва

В Республике Тыва впервые охарактеризован спектр мутаций гена *GJB2*, получены оценки патогенетического вклада этого гена в возникновение потери слуха в выборке больных с врожденной или возникшей в раннем возрасте нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени /

глухотой, рассматриваемой в качестве наиболее адекватной когорты для оценки генетической компоненты потери слуха, и проанализирована распространенность *GJB2*-мутаций в контрольной выборке тувинцев.

Мутационный спектр гена *GJB2* у тувинцев

Мутационный спектр гена *GJB2* у обследованных тувинцев с потерей слуха ограничен пятью мутациями (p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC, p.V37I и c.299_300delAT). Суммарная доля аллелей с мутациями p.W172C и IVS1+1G>A (n=91) составляет 90.1% среди всех обнаруженных мутантных хромосом (n=101) (таблица 8). Доля мутации c.235delC, которая является мажорной для алтайцев, проживающих на сопредельной территории Республики Алтай [Posukh et al., 2005], составляет около 5%, и столько же приходится на суммарную долю двух других мутаций: p.V37I и c.299_300delAT. Таким образом, вероятно, мутации p.W172C и IVS1+1G>A являются основными (мажорными) для тувинцев - представителей коренного населения Тувы.

Существенное преобладание мутаций p.W172C и IVS1+1G>A в мутационном спектре гена *GJB2* у тувинцев позволяет предположить роль эффекта основателя в происхождении этих мутаций, а их широкая распространенность по всей территории Тувы (рисунок 11) может косвенно свидетельствовать об относительно давнем возникновении p.W172C и IVS1+1G>A в популяции коренного населения Республики Тыва. Мутация p.W172C была ранее обнаружена только в Республике Алтай [Posukh et al., 2005] и в Монголии [Tekin et al., 2010], граничащих с Республикой Тыва. Высокая частота мутации p.W172C у тувинцев и ее широкая распространенность по всей территории Тувы, встречаемость этой мутации на территории Алтая и Монголии, ее отсутствие в других регионах мира и тот факт, что современные коренные жители Алтая, Тувы и Монголии, в той или иной степени, являются потомками древних кочевых тюрко- и монголоязычных племен, мигрирующих в прошлом по территории

Центральной Азии [Потапов, 1969б; Сердобов, 1971; Маннай-оол, 2004] - все эти факты позволяют выдвинуть гипотезу о возникновении мутации *p.W172C* в Туве и ведущей роли эффекта основателя в ее распространенности на территории современной Республики Тыва и географически близких регионах.

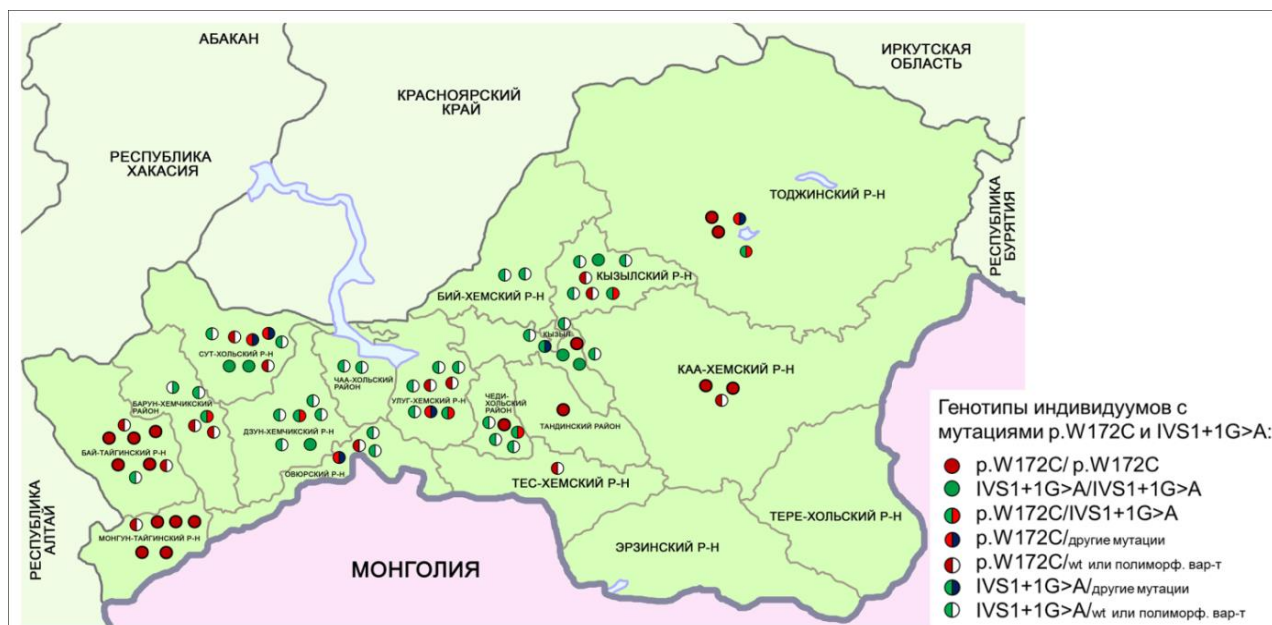


Рисунок 11. Территориальное распределение мутантных аллелей с *p.W172C*, *IVS1+1G>A* и *c.235delC* гена *GJB2* в Республике Тыва. Были использованы данные о месте рождения (в отдельных случаях, месте проживания) всех индивидуумов, имеющих данные мутации (больные, их родственники и гетерозиготные носители контрольной выборки тувинцев).

В дальнейших исследованиях, выходящих за рамки настоящей работы, мы планируем проведение детального анализа гаплотипов участка хромосомы 13, включающего ген *GJB2*, для подтверждения этой гипотезы и оценки возраста мутации *p.W172C*. Выраженный эффект основателя, приведший к уникально высокой частоте мутации *IVS1+1G>A* у якутов, коренного населения Республики Саха (Якутия), был недавно показан при реконструкции гаплотипов хромосом, несущих эту мутацию, что позволило также ориентировочно оценить время ее возникновения в Якутии (~800 лет) [Barashkov et al., 2011]. Реконструкция гаплотипов хромосом с *IVS1+1G>A* у тувинцев, принадлежащих, как и якуты, к одной (тюркской) языковой семье

и имеющих с ними общие этапы этногенеза [Алексеев, 1996; Гоголев, 2004; Маннай-оол, 2004], вероятно, позволит уточнить возраст и регион происхождения мутации IVS1+1G>A.

Мутация с.235delC, обнаруженная у тувинцев с невысокой частотой, является мажорной для многих азиатских стран, в том числе и для алтайцев - коренного населения Республики Алтай, граничащей с Тувой [Park et al., 2000; Liu et al., 2002; Ohtsuka et al., 2003; Posukh et al., 2005 Dai et al., 2009].

Также у значительной части тувинцев в обследуемой выборке больных и в контрольной выборке были выявлены полиморфные варианты гена *GJB2* (p.V27I, p.E114G, p.V153I и p.F191L) (таблицы 6 и 8), характерные для многих азиатских регионов [Park et al., 2000; Liu et al., 2002; Ohtsuka et al., 2003; Posukh et al., 2005; Dai et al., 2009].

Патогенетический вклад гена *GJB2* в возникновение потери слуха у коренного населения Республики Тыва

У 70 больных (34.8%) из общей выборки обследованных обнаружены рецессивные мутации гена *GJB2*, однако, только 38 из них (18.9%) имели две *GJB2*-мутации, в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии (таблица 6, Приложение I), что позволяет сделать однозначный вывод о том, что потеря слуха у этих больных обусловлена генетической причиной – мутациями гена *GJB2*.

Анализ родословных больных позволил нам подразделить общую выборку больных на группу спорадических (единственный больной с потерей слуха в семье, n=112) и группу семейных случаев потери слуха (более чем один больной среди близких родственников, n=89), но различия в доле больных с биаллельными *GJB2*-мутациями между этими двумя группами (17/112 и 21/89, соответственно) оказались недостоверными (p=0.092). Таким образом, наследственная потеря слуха, обусловленная гомозиготностью или компаунд-гетерозиготностью по рецессивным мутациям гена *GJB2*,

выявлена, в среднем, у каждого пятого из обследованных больных, вне зависимости от «отягощенности» их родословной.

Подавляющая часть обследованных больных (192 из 201) представлена тувинцами, поэтому полученные данные о вкладе мутаций гена *GJB2* в этиологию слуха у тувинцев составляет 18.8% (36/192), что, в целом, соответствуют сведениям об относительно меньшей доле случаев *GJB2*-обусловленной потери слуха в азиатских популяциях по сравнению с европейскими [Gasparini et al., 2000; Liu et al, 2002; Tekin et al., 2010; Yuan et al., 2009].

Необходимость генетического тестирования в более широкой категории больных с потерей слуха

Потенциальные средовые этиологические факторы (перенесенные инфекции, осложнения в родах, низких вес при рождении и т.д.) и дополнительные клинические признаки ранее часто являлись критерием, исключающим проведение генетического тестирования на наличие мутаций гена *GJB2* у пациентов с потерей слуха. В нашей работе, у больных были обнаружены мутации гена *GJB2*, как в подгруппе I (больные без указаний на средовые этиологические факторы потери слуха), так и в подгруппе II (больные с отягощенным анамнезом) (таблица 7). Эти данные подтверждают мнение современных исследователей о необходимости проведения генетической диагностики мутаций гена *GJB2* в более широкой категории больных с потерей слуха, поскольку очевидные, на первый взгляд, этиологические средовые факторы, приведшие к потере слуха у больного, могут «маскировать» генетическую природу патологии слуха, а наблюдаемые дополнительные клинические признаки могут быть этиологически не связаны с нарушением слуха у больного [Salvador et al., 2000; Venail et al., 2004; Wiley et al., 2006; Маркова, 2007; Kenna et al., 2007].

Группа больных, имеющих одну *GJB2*-мутацию

Ранее, во многих исследованиях было показано, что у определенной доли больных с потерей слуха выявляется только одна рецессивная *GJB2*-мутация, и причины потери слуха у таких больных остаются неясными. В Республике Тыва мы не выявили достоверно значимых различий ($p=0.202$) в числе индивидуумов с одной *GJB2*-мутацией в выборке тувинских больных (29/192 - в общей выборке, 27/167 - в группе неродственных больных) с числом гетерозиготных носителей *GJB2*-мутаций в контрольной выборке тувинцев (14/121) (таблица 6 и Приложение II). Можно предположить, что определенная часть спорадических больных с одной *GJB2*-мутацией также являются случайными гетерозиготными носителями *GJB2*-мутаций, и потеря слуха у них не связана с наличием одной копии мутации в гене *GJB2*. Ожидаемое количество таких случайных гетерозиготных носителей *GJB2*-мутаций в выборке больных можно оценить на основе суммарной частоты гетерозиготного носительства *GJB2*-мутаций, обнаруженной в контрольной выборке несвязанных родством тувинцев ($0.116=14/121$) (таблица 6). При таком подходе, ожидаемое число индивидуумов с одной *GJB2*-мутацией в группе неродственных тувинских больных, не имеющих биаллельных *GJB2*-мутаций ($n=167-31=136$), составило 16 человек ($136 \times 0.116=15.8$) и, таким образом, в анализируемой группе тувинских больных наблюдается определенный «избыток» реального числа гетерозиготных по *GJB2*-мутациям больных по сравнению с ожидаемым (27 и 16, $p<0.05$). Анализ родословных больных с одной *GJB2*-мутацией показал, что у существенной части больных, гетерозиготных по *GJB2*-мутациям, имеются близкие родственники (один или оба родителя, братья, сестры) с потерей слуха (семейные случаи), что может свидетельствовать об участии каких-либо генетических факторов в возникновении патологии слуха у этих больных (Приложение II). Так, например, это могут быть невыясненные пока нарушения регуляторных структур гена *GJB2*, обусловленные протяженными делециями в близлежащих участках хромосомы 13 [Wilch et al., 2010],

присутствие которых не анализировалось в рамках данной работы, а также мутации в других генах.

«Сх26-негативные» больные

У существенной части обследованных больных (131 чел.), так называемых «Сх26-негативных» больных, мутации гена *GJB2* (Сх26) не были выявлены (таблица 6 и Приложение III). У 28 таких больных имеются близкие родственники (один или оба родителя и/или братья, сестры) с потерей слуха, причем пять больных - из семей, вероятно, относящихся к некомплементарному типу браков. В таких браках потеря слуха у родителей обусловлена мутациями одного и того же рецессивного гена и, соответственно, все дети – с потерей слуха [Nance et al., 2000]. Таким образом, потеря слуха у определенной части «Сх26-негативных» больных может определяться другими, нежели мутации гена *GJB2*, генетическими факторами. Одним из вероятных генов-кандидатов является ген *SLC26A4* (MIM 605646, 7q22-q31), кодирующий трансмембранный белок пендрин – многофункциональный анионный транспортер, который экспрессируется в тканях внутреннего уха, щитовидной железы и почек [Mount et al., 2004]. Мутации в гене *SLC26A4* могут приводить к несиндромальной потере слуха (DFNB4, MIM 600791). У пациентов с DFNB4 часто наблюдается расширение вестибулярного водопровода (EVA, enlarged vestibular aqueduct) и/или дисплазия Мондини (Mondini dysplasia). Мутации гена *SLC26A4* могут также приводить к некоторым формам синдрома Пендредда (MIM 274600) - заболевания, характеризующегося дисфункцией щитовидной железы и потерей слуха [Everett et al., 1997]. Кроме того, в литературе описаны редкие случаи потери слуха, обусловленной сегрегацией мутаций генов *GJB2* и *SLC26A4* в семьях с нарушениями слуховой функции [Ben Said et al., 2012; Huang et al., 2013]. Так, у одного из членов большой семьи с близкородственными браками из Туниса выявлено сочетанное присутствие двух копий мутации p.E47X в гене *GJB2* и одной мутации c.451delG в гене

SCL26A4 [Ben Said et al., 2012], а у больного из Китая - уникальное сочетание двух биаллельных мутаций (p.T86R и c.299_300delAT) в гене *GJB2* и двух биаллельных мутаций (p.T410M и p.A360V) в гене *SLC26A4* [Huang et al., 2013]. Индивидуальный патогенетический эффект мутаций каждого из этих генов и их возможное аддитивное негативное воздействие на слуховую функцию оценить пока сложно из-за редкой встречаемости подобных случаев.

У 22 обследованных больных с потерей слуха из Республики Тыва, в качестве сопутствующего заболевания, были выявлены нарушения функции щитовидной железы (зоб разной степени, гипотиреоз и др.). У девяти таких больных были обнаружены мутации гена *GJB2*: у двух – две *GJB2*-мутации (генотипы IVS1+1G>A/IVS1+1G>A и IVS1+1G>A/p.W172C), семь индивидуумов оказались гетерозиготными по *GJB2*-мутациям (6 - с генотипом IVS1+1G>A/wt, 1 – с генотипом p.W172C/wt). У восьми больных с потерей слуха и нарушениями функции щитовидной железы имелись близкие родственники с нарушениями слуха (семейные случаи потери слуха).

Выявление семейных (наследуемых) случаев «Сх26-негативной» потери слуха в Республике Тыва является прямым свидетельством наличия других, пока неустановленных, генов, ассоциированных с этой патологией.

Таким образом, доля тувинских больных с потерей слуха, обусловленной наличием двух рецессивных мутаций гена *GJB2* (18.8%), является минимальной оценкой генетической компоненты в этиологии потери слуха у коренного населения Тувы, величина которой, вероятно, может быть выше за счет других, пока неустановленных, генетических факторов.

4.3. Социо-демографические параметры, брачный статус / брачная структура, параметры репродукции и степени социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва

В Республике Тыва было впервые проведено изучение демографических характеристик людей с потерей слуха, особенностей их брачной структуры и параметров репродукции. Также была предпринята попытка оценить степень социальной адаптации глухих, проживающих в Республике Тыва.

Брачный статус / брачная структура глухих людей в Республике Тыва

Для анализа брачного статуса и брачной структуры глухих людей в Республике Тыва были привлечены сведения о 456 индивидуумах в возрасте от 19 до 86 лет (средний возраст 39.6 ± 0.7), имеющих в большинстве случаев врожденную или возникшую в раннем детском возрасте тяжелую потерю слуха различной этиологии (таблица 9), преимущественно тувинцев (379 чел., 83.1%).

Было установлено, что на момент исследования более 70% (329 из 456) глухих людей в Республике Тыва состояли в брачных отношениях. Полученные нами данные отличаются от результатов, полученных при комплексном исследовании социо-демографических характеристик сообществ глухих людей, проведенном в двух округах Швеции (Närke и Varmland), где уровень брачности глухих людей составляет 37.1% и 35.1% - в округах Varmland и Närke, соответственно [Carlsson et al., 2004-2005].

Доля ассортативных браков между глухими людьми в Республике Тыва составила, в среднем, 64.5%, но статистически значимо различалась между городским (70.9%) и сельским населением (57.7%) Республики ($p=0.036$). Эти факты, по-видимому, связаны с тем, что концентрация глухих людей, проживающих в городских условиях (в основном, г.Кызыл), существенно выше, чем в сельских районах Республики. В г.Кызыле, в отличие от

сельских районов Республики, сосредоточены социальные учреждения для глухих людей: единственная в Республике школа для неслышащих детей, в нескольких учебных заведениях среднего профессионального образования города организованы группы для людей с ограниченными возможностями, имеется региональное отделение общества глухих и, наконец, сурдологопедическая помощь детскому и взрослому населению оказывается только в Республиканских лечебно-профилактических учреждениях г.Кызыла. Таким образом, в условиях города, для людей с потерей слуха, вероятно, имеется больше возможностей для трудоустройства, медицинского обслуживания и коммуникации. Контрастные различия брачной ассортативности были выявлены и в шведском исследовании [Carlsson et al., 2004-2005], где практически при равных уровнях брачности округе Narke (с более развитой социальной инфраструктурой для глухих людей) зафиксировано 99% браков между глухими партнерами, в то время как в округе Varmland - всего 10% таких браков [Carlsson et al., 2004-2005]. В нескольких работах, проведенных ранее, было показано, что доля ассортативных браков между глухими индивидуумами существенно различается в разных регионах мира (10-90%), в зависимости от степени консолидированности сообществ глухих людей [Schein, Delk, 1974; Rose, 1975; Rapin, 1978; Schein, 1978; Chaabani et al., 1995; Blanton et al., 2010; Tekin et al., 2007, 2010; Джемилева, 2011б]. Так, высокая ассортативность браков между глухими людьми наблюдается в США (70-90%) где существуют сообщества глухих людей “Deaf Culture” [Schein, Delk, 1974; Rose, 1975; Rapin, 1978; Schein, 1978; Blanton et al., 2010]. Существенно меньшая доля ассортативных браков выявлена в регионах, где сообщества глухих людей в меньшей степени консолидированы. Так, в Тунисе частота ассортативных браков между глухими составляет около 10-30% [Chaabani et al., 1995], в Турции - 46.8% [Tekin et al., 2007] а в Монголии - 37.5% [Tekin et al., 2010]. В работе [Джемилева, 2011б], доля ассортативных браков между

глухими индивидуумами в Республике Башкортостан составляет 45% [Джемилева, 2011б].

Интересно отметить, что по этнической принадлежности супругов, относящихся к разным типам браков - «ГЛ x ГЛ» и «ГЛ x Н» в Республике Тыва, значительную их долю составляют однонациональные тувинские браки – 63.3% и 64.8% браков, соответственно. В ранних исследованиях по изучению популяционно-демографической структуры тувинцев было показано, что доля межнациональных браков в популяции тувинцев очень низка на всей территории Республики, а доля одноэтнических тувинских браков достигала более 90% [Алексеева, 1984; Кучер и др., 1999б; Пузырев, 1999]. В этой связи, можно заметить, что ассортативность браков по этническому признаку в популяции тувинцев сохраняется вне зависимости от состояния слуха брачных партнеров.

Репродукция глухих людей в Республике Тыва

Как известно, фертильность является весьма важной мерой, отражающей биологическую приспособленность (genetic fitness) как популяции в целом, так групп индивидуумов с генетическими заболеваниями. В немногочисленных исследованиях, в которых были предприняты попытки оценить параметры репродукции глухих людей (среднее число детей), в качестве сравниваемой группы были взяты выборки из родных братьев и сестер (сибсы) глухого индивидуума, т.к. их связывает общность генотипов, социальный статус, среда воспитания, уклад жизни и многое другое [Schein, Delk, 1974; Hu et al., 1987; Liu et al., 2001; Carlsson et al., 2004-2005; Blanton et al., 2010; Tekin et al., 2010].

Исследованием репродуктивных показателей людей с потерей слуха в Республике Тыва было охвачено 229 человек, более 80% которых составили этнические тувинцы. Было выявлено, что среднее число детей у глухих индивидуумов (2.26 ± 0.06) несколько снижено по сравнению с контрольной выборкой (сибсы) (2.40 ± 0.05), хотя статистически значимых различий по

этому параметру не было выявлено (таблица 10). Кроме того, среднее число детей во всех браках между глухими брачными партнерами (2.14 ± 0.08) было ниже по сравнению с браками, где только один из брачных партнеров глухой (2.50 ± 0.16), и эта тенденция наиболее выражена в браках, где муж – глухой, а жена - слышащая (3.0 ± 0.31) (таблица 11). В нескольких работах подобного рода, выполненных ранее в США, Китае и Монголии, было показано значительное снижение параметров репродукции у глухих индивидуумов по сравнению с их родными братьями/сестрами [Blanton et al., 2010; Hu et al., 1987; Liu et al., 2001; Tekin et al., 2010]. Но, в работе [Blanton et al., 2010], репродуктивные показатели (среднее число детей) оказались выше в ассортативных браках между глухими людьми (2.11), чем в браках между глухими и нормально слышащими партнерами (1.85) [Blanton et al., 2010].

Таким образом, анализ репродукции людей с потерей слуха в Республике Тыва, показал, что, в целом, они имеют достаточно высокую биологическую приспособленность (0.93), хотя и отмечаются некоторые тенденции к общему снижению параметров репродукции в ассортативных браках между глухими людьми.

Степень социальной адаптации людей с потерей слуха в Республике Тыва

Для оценки уровня социальной адаптации глухих людей в Республике Тыва было проведено специализированное социологическое анкетирование 118 индивидуумов в возрасте от 19 до 63 лет (средний возраст 35.1 ± 1.3) преимущественно с тяжелыми нарушениями слуха (89.8% респондентов были тувинской национальности - 106 чел.).

Как известно, одним из важных показателей, характеризующих социальную адаптацию глухих людей, является способ их коммуникации. Результаты специализированного анкетирования показали, что подавляющее большинство респондентов обучались в специализированной школе для глухих и слабослышащих детей, где ими был освоен жестовый язык, который

для многих является единственным способом коммуникации. Отсутствие слуха большинством респондентов рассматривается как серьезный недостаток, ограничивающий возможности получения образования и трудоустройства и, следовательно, резко снижающий их уровень жизни и социальный статус. Большинство обследованных предпочитают в повседневной жизни общение с глухими и слабослышащими, в то время как общение с людьми с нормальным слухом вызывают у них серьезные затруднения и недопонимание. Около 30% глухих дифференцируют окружающий социум на «мир глухих» и «мир слышащих». Тем не менее, более половины молодых людей, не состоящих в браке, предпочли бы иметь брачного партнера с нормальным слухом и большинство из них хотят, чтобы их будущие дети, в отличие от них, хорошо слышали.

Таким образом, основываясь на этих данных, можно предположить, что в Республике Тыва пока еще нет консолидированного сообщества глухих людей, подобного “Deaf Culture” в европейских странах и США [Padden, Humphries, 1988; Andersson, 1991; Arnos et al., 1991; Christiansen, 1991; Ruben, 1991; Prezioso, 1995; Stern et al., 2002 и др.]. В этих сообществах отсутствие слуха рассматривается в социокультурном аспекте, а не как отклонение от нормы и основным объединяющим фактором его членов является использование единого жестового языка. Важными социально-демографическими характеристиками этих микросоциумов глухих людей являются высокая ассортативность браков, основанная на лингвистической гомогамии, и, как было показано в некоторых исследованиях, позитивное отношение глухих супругов к рождению глухих детей [Middleton et al., 1998; 2001; Stern et al., 2002].

Исследования, направленные на изучение комплексных социо-демографических характеристик сообществ глухих людей в настоящее время немногочисленны и ограничены в литературе только работами зарубежных авторов. В России подобные работы не проводились или, по крайней мере, в доступной литературе не описаны. Проведение данных работ связано со

сложностью получения исчерпывающих первичных данных у глухих людей без помощи слышащих родственников или сурдопереводчика и недостатком, а в некоторых случаях, и полным отсутствием архивных и учетно-демографических материалов, касающихся социальных и материальных условий жизни глухих людей.

В проведенном нами исследовании мы впервые получили характеристики особенностей брачной структуры, биологической приспособленности (параметров репродукции) людей с потерей слуха в Республике Тыва и предприняли попытку оценить степень их социальной адаптации и консолидации в обществе. Эти данные, в совокупности с результатами молекулярно-генетического исследования наследственной глухоты в Республике Тыва, возможно, в дальнейшем, позволят оценить потенциальную роль социально-демографических факторов в распространенности наследуемых форм глухоты в Республике Тыва.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено эпидемиологическому и молекулярно-генетическому анализу нарушений слуховой функции у населения Республики Тыва для выявления генетической компоненты в этиологии изолированной нейросенсорной тугоухости, обусловленной мутациями гена *GJB2*.

В Республике Тыва создана единая база данных о больных (1407 чел.), страдающих различными формами тугоухости/глухоты и проведен эпидемиологический анализ нарушений слуха. Установлено, что около 70% больных имеют тяжелые (социально-значимые) формы потери слуха, требующие оказания разносторонних медико-социальных реабилитационных мер. Распространенность тугоухости/глухоты различной этиологии в Республике Тыва, в среднем, составила 1 : 220 чел., с вариацией по районам Республики: от 1 : 392 чел. в Тандинском районе до 1 : 85 чел. в Сут-Хольском районе. Распространенность нейросенсорной тугоухости III-IV степени/глухоты вероятной генетической этиологии оказалась, в среднем, равной 1 : 573 чел., варьируя от 1 : 1375 чел. в Эрзинском районе до 1 : 319 чел. в Сут-Хольском районе. Причины накопления различных форм потери слуха, в том числе тугоухости наследственной этиологии, в отдельных районах Республики Тыва, возможно, связаны с подразделенностью населения Республики и требуют, в дальнейшем, более детального изучения.

Результаты сегрегационного анализа позволили подтвердить только лишь гипотезу об аутосомно-рецессивном типе наследования тугоухости/глухоты, что, по-видимому, связано с присутствием определенного числа спорадических случаев потери слуха в большинстве анализируемых семей с различными типами наследования потери слуха.

Детальное изучение родословных ряда ядерных семей позволили выдвинуть предположение о наличии более чем одного гена, контролирующего потерю слуха, в Республике Тыва.

На основании проведенного эпидемиологического анализа больных с различными типами потери слуха была выделена группа больных с нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени/глухотой – 540 чел. (38.4%), у которых нарушение слуха, вероятно, обусловлено генетическими факторами. В выборке больных с преимущественно изолированной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени/глухотой (201 чел.) методом секвенирования по Сэнгеру был проанализирован спектр мутаций и полиморфных вариантов гена *GJB2*, наиболее значимого в этиологии наследуемой потери слуха. У 70 больных (34.8%) были выявлены рецессивные мутации гена *GJB2*: у 38 больных (18.9%) - в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии, у 32 больных (15.9%) присутствовала только одна рецессивная *GJB2*-мутация.

Подавляющее число больных (192 чел.) в исследуемой выборке представлено тувинцами, и оценка патогенетического вклада мутаций гена *GJB2*, определяемого наличием у пациента биаллельных рецессивных мутаций этого гена, в этиологию нарушений слуха у представителей коренного населения Республики Тыва составила 18.8% (36 из 192 чел.). В процессе работы было выявлено значительное число тувинских семей с двумя и более глухими индивидуумами, у которых не было обнаружено мутаций гена *GJB2* (Cx26) (так называемые «Cx26-негативные больные»), что подтверждает наличие других (не анализируемых в настоящей работе) генов, контролирующих потерю слуха, у больных в Республике Тыва.

Мутационный спектр гена *GJB2* у тувинских больных представлен пятью рецессивными мутациями - p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC, p.V37I и c.299_300delAT, среди которых преобладают мутации p.W172C (51.49%) и IVS1+1G>A (38.61%). У значительной части тувинцев в обследуемой выборке больных и в контрольной выборке тувинцев были выявлены полиморфные варианты гена *GJB2* (p.V27I, p.E114G, p.V153I и p.F191L), характерные для азиатских регионов. Суммарная частота гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2* в контрольной выборке

тувинцев составила 11.57%, в том числе: p.W172C - 4.96%, с.IVS1+1G>A – 4.13% и p.V37I – 2.48%. Превалирующая частота мутации p.W172C у тувинцев позволяет предположить роль эффекта основателя в происхождении этой мутации, а ее широкая распространенность по всей территории Тувы может косвенно свидетельствовать об относительно давнем возникновении p.W172C в популяции коренного населения Республики Тыва.

Для сообщества глухих людей в Республике Тыва получены его социодемографические характеристики, определены особенности брачной структуры людей с потерей слуха, уровень их биологической приспособленности (оцениваемый по параметрам репродукции) и степень их социальной адаптации. Ассортативность браков между глухими людьми составила 64.5%, статистически значимо различаясь между городским (70.9%) и сельским населением (57.7%) ($p=0.036$). Анализ параметров репродукции выявил более низкое среднее число детей у глухих индивидуумов (2.26 ± 0.06) по сравнению с контрольной выборкой (2.40 ± 0.05), в качестве которой анализировались их нормально слышащие родные братья и сестры (сисбы). Кроме того, была выявлена тенденция к снижению среднего числа детей в ассортативных браках между глухими людьми (2.14 ± 0.0) по сравнению с браками, в которых только один из брачных партнеров имеет потерю слуха (2.50 ± 0.16), и эти различия становились статистически значимыми ($p=0.032$) при сопоставлении с браками, где глухим партнером выступает мужчина.

Результаты специализированного анкетирования индивидуумов с потерей слуха в Республике Тыва показали, что подавляющее большинство респондентов владеет жестовым языком, являющимся для них преобладающим способом коммуникации. Отсутствие слуха рассматривается большинством из них как серьезный недостаток, снижающий уровень жизни и социальный статус. Около 30% глухих дифференцируют окружающий социум на «мир глухих» и «мир слышащих». Тем не менее, более половины

молодых людей, не состоящих в браке, предпочли бы иметь брачного партнера с нормальным слухом и большинство из них хотят, чтобы их будущие дети, в отличие от них самих, были слышащими. Основываясь на этих данных, мы предполагаем, что в Республике Тыва пока еще не сложилось консолидированное сообщество глухих людей, подобное “Deaf Culture” в европейских странах и США. Полученные социо-демографические данные о сообществе глухих людей, в совокупности с результатами молекулярно-генетического исследования наследственной глухоты в Республике Тыва, возможно, в дальнейшем, позволят оценить потенциальную роль социальных факторов в распространенности наследуемых форм глухоты в изучаемом регионе.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность тугоухости/глухоты различной этиологии в Республике Тыва, в среднем, составляет 1 : 220 чел., с вариацией по районам: от 1 : 392 чел. в Тандинском районе до 1 : 85 чел. в Сут-Хольском районе, а нейросенсорной тугоухости III-IV степени/глухоты вероятной генетической этиологии - в среднем, 1 : 573 чел., варьируя от 1 : 1375 чел. в Эрзинском районе до 1 : 319 чел. в Сут-Хольском районе.
2. Патогенетический вклад гена *GJB2* (Cx26), определяемый присутствием биаллельных рецессивных мутаций этого гена, в этиологию потери слуха у тувинцев составляет 18.8%.
3. Полученная оценка вклада гена *GJB2* (Cx26), вероятно, является минимальной оценкой генетической компоненты в этиологии потери слуха у коренного населения Тувы, поскольку выявление семейных (наследуемых) случаев «Cx26-негативной» глухоты в Республике Тыва свидетельствует о присутствии других, пока неустановленных, генов, ассоциированных с этой патологией.
4. Мутационный спектр гена *GJB2* у тувинских больных ограничен пятью рецессивными мутациями - p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC, p.V37I и c.299_300delAT, среди которых преобладают мутации p.W172C (51.49%) и IVS1+1G>A (38.61%).
5. Мутация p.W172C (c.516G>C) обнаружена с высокой частотой только в популяции тувинцев, что позволяет предположить ключевую роль эффекта основателя в ее широкой распространенности на территории Республики Тыва.
6. Суммарная частота гетерозиготного носительства рецессивных мутаций гена *GJB2* в популяционной выборке тувинцев равна 11.57%, в том числе: p.W172C - 4.96%, IVS1+1G>A – 4.13% и p.V37I – 2.48%.
7. Впервые получена социо-демографическая характеристика сообщества глухих людей в Республике Тыва. Брачная структура глухих людей

характеризуется относительно высокой ассортативностью: доля браков между глухими людьми составляет 64.5%, статистически значимо различаясь между городским (70.9%) и сельским населением (57.7%) ($p=0.036$). Не обнаружено статистически значимых различий в среднем числе детей у глухих индивидуумов (2.26 ± 0.06) и в контрольной выборке (2.40 ± 0.05). Выявлена тенденция к снижению среднего числа детей в ассортативных браках между глухими людьми (2.14 ± 0.0) по сравнению с браками, в которых только один из брачных партнеров имеет потерю слуха (2.50 ± 0.16).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев А.Н. Древняя Якутия. Неолит и эпоха бронзы. - Новосибирск: Изд-во Института археологии и этнографии СО РАН, 1996. – 143с.
2. Алексеев В.П. Краткое изложение палеоантропологии Тувы в связи с историческими вопросами / Антропозоологические исследования в Туве / Ред. Т.И. Алексеевой, М.И. Урысона. - М.: Наука, 1984. - С. 6-75.
3. Алексеева Т.И. Антропологические особенности современных тувинцев. Кефалометрия и кефалоскопия / Антропозоологические исследования в Туве / Ред. Т.И. Алексеевой, М.И. Урысона. - М.: Наука, 1984. - С. 75-125.
4. Анайбан З. В., Маннай-оол М. Х. Происхождение тувинцев. История вопроса [Электронный ресурс] // Новые исследования Тувы. – 2013. - № 3. URL: http://www.tuva.asia/journal/issue_19/6487-anayban-mannayool.html.
5. Баскаков Н.А. Историко-типологическая фонология тюркских языков. - М.: Наука, 1988. – 203с.
6. Бичелдей К.А. Звуковой строй диалектов тувинского языка. - М.: Изд-во РУДН, 2001. - 155с.
7. Близнец Е.А., Галкина В.А., Матющенко Г.Н., Кисина А. Г., Маркова Т. Г., Поляков А. В. Изменения в гене коннексина 26 – *GJB2* – при нарушениях слуха у российских пациентов: результаты многолетней молекулярной диагностики наследственной несиндромальной тугоухости // Генетика. - 2012. - Т. 48 - №1. - С. 112-124.
8. Богданова В.И. Некоторые вопросы формирования антропологического состава современных тувинцев // Советская этнография. - 1978. - № 6. - С. 46-60.

9. Божкова В.П., Хашаев З.Х., Магомедов Ш.М. Изучение наследственных нарушений слуха у детей Северного Кавказа // Фундаментальные исследования. - 2011. - №5. - С. 23-27.
10. Вайнштейн С.И. Историческая этнография тувинцев. - М.: Наука, 1972. - 314с.
11. Вайнштейн С.И. Происхождение саянских оленеводов (Проблема этногенеза тувинцев-тоджинцев и тофаларов) // Этногенез народов Севера. - М.: 1980. - С. 69.
12. Гоголев А.И. Этническая история народов Якутии (до начала XX в.). - Якутск: Изд-во ЯГУ, 2004. - 104с.
13. Голубенко М.В., Пузырев В.П., Салюков В.Б., Кучер А.Н., Санчат Н.О. Распространенность делеционно-инсерционного полиморфизма V межгенного района митохондриальной ДНК среди коренного населения Тувы // Генетика. - 2000. - Т. 36 - № 3. - С. – 371-376.
14. Голубенко М.В., Пузырев В.П., Салюков В.Б., Кучер А.Н., Санчат Н.О. Анализ распространенности «монголоидных» гаплогрупп митохондриальной ДНК среди коренного населения Тувы // Генетика. - 2001. - Т. 37 - № 6. - С. 831-839.
15. Деренко М.В., Малярчук Б.А., Денисова Г.А., Дамбуева., Захаров И.А. Структура и разнообразие митохондриальных генофондов народов Южной Сибири // Доклады Академии Наук. - 2003. - Т. 393 - № 5. - С. 710-714.
16. Деренко М.В., Малярчук Б.А., Денисова Г.А., Доржу Ч.М., Карамчакова О.Н., Лузина Ф.А., Лотош Е.А., Дамбуева И.К., Ондар У.Н., Захаров И.А. Полиморфизм диаллельных локусов Y-хромосомы у коренного населения Алтае-Саянского нагорья // Генетика. - 2002. - Т. 38 - № 3. - С. 393-399.

17. Джемилева Л.У., Посух О.Л., Барашков Н.А., Федорова С.А., Терютин Ф.М., Ахметова В.Л., Хидиятова И.М., Хусаинова Р.И., Лобов С.Л., Хуснутдинова Э.К. Оценка гаплотипического разнообразия и реконструкция предкового гаплотипа, ассоциированного с мутацией с.35delG гена GJB2 (Cx26), в популяциях Волго-Уральского региона // Acta Nature. – 2011а. - Т. 3 - № 10. - С. 15–20.
18. Джемилева Л.А. Молекулярно-генетический анализ наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухости. Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. - М., 2011б. - 48с.
19. Журавский С.Г., Иванов С.А., Тараскина А.Е., Гринчик О.В., Курусь А.А. Распространение «глухой» мутации 35delG гена GJB2 среди здорового населения Северо-Западного региона России // Медицинский академический журнал. - 2009. - Т.9. - С. 41-45.
20. Зинченко Р.А., Галкина В.А., Бессонова Л.А., Дадали Е.Л., Хлебникова О.В., Михайлова Л.К., Кадышев В.В., Петрин А.Н., Шаронова Е.И., Вафина З.И., Эльканова Л.А., Гаврилина С.Г., Болотов В.А., Поляков А.В., Стрельников В.В., Залетаев Д.В., Захарова Е.Ю., Гинтер Е.К. Медико-генетическое изучение населения Республики Татарстан. Сообщение II. Разнообразие моногенной наследственной патологии в трех районах проживания казанских татар // Медицинская генетика. - 2012а. - № 9. - С. 31-40.
21. Зинченко Р.А., Осетрова А.А., Шаронова Е.Е., Ельчинова Г.И. Наследственная тугоухость в Кировской области. Генетико-эпидемиологическое исследование // Генетика. - 2012б. - Т. 48 - № 3. - С. 381-388.
22. Зинченко (Мамедова) Р.А., Галкина В.А., Ельчинова Г.И., Нурбаев С.Д., Поляков А.В., Некрасова Н.Ю., Гинтер Е.К. Распространенность и молекулярно-генетическое типирование

несиндромальной нейросенсорной тугоухости в Республике Чувашия // Генетика. 2003. - Т. 39 - №9. - С. 1275-1284.

23. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Осипова Е.В., Петрова Н.В., Гинтер Е.К. Популяционная генетика наследственных болезней в Удмуртской республике // Вестник Удмуртского университета. - 2009а. - Вып. 1. - С. 43-57.

24. Зинченко Р.А., Мурзабаева С.Ш., Гринберг Я.И., Галкина В.А., Хлебникова О.В., Дадали Е.Л., Федотов В.П., Хидиятова И.М., Хуснутдинова Э.К., Гинтер Е.К. Генетико-эпидемиологическое изучение населения Республики Башкортостан. Разнообразие моногенной наследственной патологии в пяти районах республики // Генетика. - 2009б. - Т. 45 - № 5. - С. 677-690.

25. Зинченко С.П., Кириллов А.Г., Аbruкова А.В., Сорокина Т.В., Шаронова Е.И., Хидиятова И.М., Джемилева Л.У., Шокарев Р.А., Близнац Е.А., Хуснутдинова Э.К., Зинченко Р.А., Гинтер Е.К. Генетико-эпидемиологическое исследование наследственных (изолированных и синдромальных) нарушений слуха в Республике Чувашия // Медицинская генетика. - 2007. - Т. 6 - № 5(59). - С. 18-28.

26. Иванова О.Ф., Кучер А.Н., Дьяченко Е.П., Эрдыниева Л.С., Санчат Н.О. Изменчивость биохимических и иммунологических маркеров генов у тувинцев // Бюллетень Томского научного центра СО РАМН. - Томск: ТНЦ СО РАМН. - 1995. - Вып. 6. - С. 52-61.

27. История Тувы. Т.1 / Под общ. ред. С.И. Вайнштейна, М.Х. Маннай-оола. - Кызыл: ОАО «Тываполиграф», 2014. - 368с.

28. Кучер А.Н. Динамика генетико-демографической структуры и генетическое разнообразие коренных и пришлых популяций Сибирского региона. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. - Томск, 2001. - 43с.

29. Кучер А.Н., Ондар Э.А., Степанов В.А., Одиноква О.Н., Голубенко М.В., Фрейдин М.Б. Косянкова Т.В., Пузырев В.П. Тувинцы:

гены, демография, здоровье. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2003. - 232с.

30. Кучер А.Н., Пузырев В.П., Санчат Н.О., Эрдыниева Л.С. Генетико-демографическая характеристика сельского населения Республики Тыва: национальный, родоплеменной состав, половозрастная структура // Генетика. – 1999а. - Т.35 - №5. - С.-688-694.

31. Кучер А.Н., Пузырев В.П., Санчат Н.О., Эрдыниева Л.С. Генетико-демографическая характеристика сельского населения Республики Тува: структура браков // Генетика. – 1999б. - Т. 35 - № 7. – С. 976-981.

32. Кучер А.Н., Пузырев В.П., Чернецов Д.Б., Эрдыниева Л.С., Санчат Н.О. Полиморфизм иммунологических и биохимических маркеров генов в сельских популяциях Республики Тува // Генетика. - 2000. - Т. 36 - № 4. - С. – 562-569.

33. Кызласов Л.Р. История Тувы в средние века. - М.: Изд-во МГУ, 1969. - 211с.

34. Кызласов Л.Р. Древняя Тува. - М.: Изд-во МГУ, 1979. - 207с.

35. Маннай-оол М.Х. Тувинцы: происхождение и формирование этноса. – Новосибирск: Наука, 2004. - 166с.

36. Маркова Т.Г., Мегрелишвили С.М., Зайцева Н.Г., Поляков А.В. ДНК-диагностика при врожденной и ранней детской тугоухости/глухоте // Вестник оториноларингологии. - 2002. - № 6. - С. 12-15.

37. Маркова Т.Г. Генодиагностика и профилактика наследственных форм тугоухости: несиндромальная нейросенсорная тугоухость // Российская оториноларингология. - 2007. - №2. - С. 55-62.

38. Маркова Т.Г., Поляков А.В., Кунельская Н.Л. Клиника нарушений слуха, обусловленных изменениями в гене коннексина 26 // Вестник оториноларингологии. - 2008. - № 2. - С. 4-9.

39. Матракшин А.Г., Цой Л.Н., Поспелов Л.Е., Капина М.А., Холод О.Н., Пушкина Е.И. Изучение генотипа больных туберкулезом и здоровых ревакцинированных детей тувинской национальности // Проблемы туберкулеза. - 1993. - №1. - С.25-27.
40. 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.
41. Одиноква О.Н., Кутмин А.И., Салюков В.Б., Еремина Е.Р. Изучение аллельного полиморфизма гена фенилаланингидроксилазы в трех популяциях Сибири // Генетика человека и патология. – Томск: Изд-во ТГУ, 1997. - Вып. 4. - С. 144-149.
42. Осетрова А.А., Шаронова Е.И., Россинская Т.Г., Галкина В.А., Зинченко Р.А. Изучение генетических причин врожденной и ранней детской тугоухости в специализированных школах для детей с нарушением слуха в Кировской области // Медицинская генетика. - 2010. - № 9. - С. 30-40.
43. Потапов Л.П. Очерки народного быта тувинцев. - М.: Наука, 1969а. - 402с.
44. Потапов Л.П. Этнический состав и происхождение алтайцев. Историко-этнографический очерк. - Л.: Наука, 1969б. - 196с.
45. Пузырев В.П., Назаренко Л.П. Генетико-эпидемиологическое исследование населения Тувы. - Томск: STT, 1999. - 256 с.
46. Пузырев В.П., Назаренко Л.П. Генетико-эпидемиологическое исследование наследственной патологии в Западной Сибири. - Томск: STT, 2000. - 192с.
47. Пшенникова В.Г., Барашков Н.А., Терютин Ф.М., Соловьев А.В., Кларов Л.А., Романов Г.П., Готовцев Н.Н., Саввинова К.Е., Кожевников А.А., Сидорова О.Г., Васильева Л.М., Федотова Э.Е., Морозов И.В., Бондарь А.А.,

Соловьева Н.А., Кононова С.К., Рафаилов А.М., Сазонов Н.Н., Алексеев А.Н., Посух О.Л., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К., Федорова С.А. Анализ спектра и частоты *GJB2*-мутаций у пациентов с врожденными нарушениями слуха в Республике Саха (Якутия) // Медицинская генетика. - 2015. - № 6. - С. 10-21.

48. Рычков Ю.Г. Особенности серологической дифференциации народов Сибири // Вопросы антропологии. - 1965. - Вып. 21. – С. 18 – 32.

49. Рычков Ю.Г., Перевезчиков И.В., Шереметьева В.А., Волкова Т.В., Башлай А.Г. К популяционной генетике коренного населения Сибири. Восточные Саяны. // Вопросы антропологии. - 1969. - Вып. 31. - С. 3-32.

50. Салюков В.Б., Пузырев В.П., Голубенко М.В. Полиморфизм митохондриального генома у тувинцев // Генетика человека и патология. – Томск. Изд-во ТГУ, 1997. - Вып. 4. - С. 106-110.

51. Салюкова О.А., Назаренко Л.П., Береснева Э.А., Коталевская Ю.Ю., Фадюшина С.В. Распространенность наследственной патологии у населения Республики Алтай // Генетика. - 2004. - Т.40 - №10. - С. 1417-1424.

52. Сердобов Н.А. История формирования тувинской нации. - Кызыл: Тувинское книжное изд-во, 1971. - 482с.

53. Спицын В. А., Боева С.Б., Филиппов И.К. Генетико-антропологическое изучение коренного населения Алтае-Саянского нагорья. // Антропологические исследования в Туве / Ред. Т.И. Алексеева, Л.И. Урысон. - М.: Наука, 1984. - С. 185-194.

54. Степанов В.А., Пузырев В.П. Анализ аллельных участков семи микросателлитных локусов Y-хромосомы в трех популяциях тувинцев // Генетика. – 2000а. – Т. 36.- С. 241-248.

55. Степанов В.А., Пузырев В.П. Происхождение и эволюция Y-хромосомы у тувинцев // Генетика человека и патология. – 2000б. – Вып. 5. – С. 73-90.

56. Степанов В.А. Этногеномика населения Северной Азии. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2002. – 244с.
57. Таварткиладзе Г.А., Загорянская М.Е., Румянцева М.Г., Гвелесиани Т.Г., Ясинская А.А. Методики эпидемиологического исследования нарушений слуха. Методические рекомендации Российского научно-практического Центра аудиологии и слухопротезирования Росздрава. - Москва, 2006. - 21с.
58. Тарская Л.А., Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Егорова А.Г., Коротов М.Н., Басова Е.В., Прокопьева А.М., Сивцева Е.Н., Николаева Е.Е., Банщикова Е.С., Самаркина М.В., Санникова А.Н., Данилова Г.И., Желобцова А.Ф., Данилова А.П., Попова Г.Н. Структура и разнообразие наследственной патологии в республике Саха (Якутия) // Генетика. - 2004. - Т. 40 - № 11. - С. 1530-1539.
59. Татаринцев Б.И. О кетских гидронимах Тувы // Языки и топонимия. – Томск, 1976. - С.94-95.
60. Татаринцев Б.И. О некоторых тувинских этнонимах / Новейшие исследования по археологии Тувы и этногенезу тувинцев. - Кызыл, 1980. - С.144-148.
61. Хидиятова И.М., Джемилева Л.У., Хабибуллин Р.М., Хуснутдинова Э.К. Анализ частоты мутации 35delG в гене коннексина 26(GJB2) у больных с несиндромальной аутосомно-рецессивной глухотой из Башкортостана и в популяциях народов Волго-Уральского региона // Молекулярная биология. - 2002. - Т. 36 - № 3. - С. 438-441.
62. Чадамба З.Б. Тоджинский диалект. – Кызыл: Тувкнигоиздат, 1974. – 136с.
63. Чикишева Т.А. К вопросу о формировании антропологического состава ранних кочевников Тувы / Археология, этнография и антропология Евразии. - 2008. - № 4 (36). - С.120-140.

64. Шаронова Е.И., Осетрова А.А., Зинченко Р.А. Наследственные нарушения слуха в Кировской области // Якутский медицинский журнал. - 2009. - № 2 (29). - С. 28-31.
65. Шокарев Р.А., Амелина С.С., Кривенцова Н.В., Хлебникова О.В., Близнац Е.А., Поляков А.В., Зинченко Р.А. Генетико-эпидемиологическое и молекулярно-генетическое исследование наследственной тугоухости в Ростовской области // Медицинская генетика. - 2005. - Т.4 - № 12. - С. 556-567.
66. Abe S., Usami S., Shinkawa H., Kelley P.M., Kimberling W.J. Prevalent connexin 26 gene (*GJB2*) mutations in Japanese // J. Med. Genet. - 2000. - Vol. 37(1). - P. 41-43.
67. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., Ramensky V.E., Gerasimova A., Bork P., Kondrashov A.S., Sunyaev S.R. A method and server for predicting damaging missense mutations // Nat. Methods. - 2010. - Vol.7(4). - P. 248-249.
68. Andersson Y. Sociological implications of genetic deafness // Am. J. Hum. Genet. Suppl. - 1991. - P. 49:5.
69. Arnos K.S., Israel J., Cunningham M. Genetic counselling for the deaf: medical and cultural considerations // Ann. N. Y. Acad. Sci. - 1991. - Vol. 630. - P. 212-222.
70. Arnos K.S., Welch K.O., Tekin M., Norris V.W., Blanton S.H., Pandya A., Nance W.E. A comparative analysis of the genetic epidemiology of deafness in the United States in two sets of pedigrees collected more than a century apart // Am. J. Hum. Genet. - 2008. - Vol. 83(2). - P. 200-207.
71. Ballana E., Ventayol M., Rabionet R., Gasparini P., Estivill X. Connexins and deafness Homepage. World wide web URL: <http://www.crg.es/deafness> (2015).
72. Barashkov N.A., Dzhemileva L.U., Fedorova S.A., Teryutin F.M., Posukh O.L., Fedotova E.E., Lobov S.L., Khusnutdinova E.K. 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. - Vol. 56. - P. 631-639.

73. Ben Arab S., Masmoudi S., Beltaief N., Hachicha S., Ayadi H. Consanguinity and endogamy in Northern Tunisia and its impact on non-syndromic deafness // *Genet. Epidemiol.* - 2004. - Vol. 27. - P. 74-79.

74. Ben Said M., Dhouib H., BenZina Z., Ghorbel A., Moreno F., Masmoudi S., Ayadi H., Hmani-Aifa M. Segregation of a new mutation in SLC26A4 and p.E47X mutation in GJB2 within a consanguineous Tunisian family affected with Pendred syndrome // *Int. J. Pediatr Otorhinolaryngol.* - 2012. - Vol. 76(6). – P. 832-836.

75. Bender R. The conquest of deafness: a history of the long struggle to make possible normal living to those handicapped by lack of normal hearing. - 3rd ed.: Danville, Ill.: Interstate Printers & Publishers, 1981. - 216p.

76. Blanton S.H., Nance W.E., Norris V.W., Welch K.O., Burt A., Pandya A., Arnos K.S. Fitness among individuals with early childhood deafness: Studies in alumni families from Gallaudet University // *Ann. Hum. Genet.* - 2010. - Vol. 74(1). - P. 27-33.

77. Brobby G.W., Müller-Muhsok B., Horstmann R.D. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa // *N. Engl. J. Med.* - 1998. - Vol. 19 - №. 338. - P. 548-550.

78. Carlsson P.I., Danermark B., Borg E. Marital status and birthrate of deaf people in two Swedish counties: the impact of social environment in terms of deaf community // *Am. Ann. Deaf.* - 2004-2005. - Vol. 149(5). - P. 415-420.

79. Chaabani H., Ben Arab S., Chebbi K. Genetic heterogeneity study of non-syndromic autosomal recessive sensorineural deafness within the Tunisian population // *Ann. Genet.* - 1995. - Vol 38. - P. 158–161.

80. Christiansen J.B. Sociological implications of hearing loss // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1991. - Vol. 630. - P. 230-235.
81. Dai P., Yu F., Han B., Liu X., Wang G., Li Q., Yuan Y., Liu X., Huang D., Kang D., Zhang X., Yuan H., Yao K., Hao J., He J., He Y., Wang Y., Ye Q., Yu Y., Lin H., Liu L., Deng W., Zhu X., You Y., Cui J., Hou N., Xu X., Zhang J., Tang L., Song R., Lin Y., Sun S., Zhang R., Wu H., Ma Y., Zhu S., Wu BL., Han D., Wong LJ. GJB2 mutation spectrum in 2,063 Chinese patients with nonsyndromic hearing impairment // J. Transl. Med. - 2009. - Vol. 7. - P. 26.
82. Dzhemileva L.U., Barashkov N.A., Posukh O.L., Khusainova R.I., Akhmetova V.L., Kutuev I.A., Gilyazova I.R., Tadinova V.N., Fedorova S.A., Khidiyatova I.M., Lobov S.L., Khusnutdinova E.K. Carrier frequency of *GJB2* gene mutations c.35delG, c.235delC and c.167delT among the populations of Eurasia // Journal of Human Genetics. – 2010. - Vol. 8. – P. 35–40.
83. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, Adawi F, Hazani E, Nassir E, Baxevanis AD, Sheffield VC, Green ED. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS) // Nat. Genet. – 1997. - Vol 17(4). - P. 411-22.
84. Gasparini P., Rabionet R., Barbujani G., Melchionda S., Petersen M., Brondum-Nielsen K., Metspalu A., Oitmaa E., Pisano M., Fortina P., Zelante L., Estivill X. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations // Eur. J. Hum. Genet. - 2000. - Vol. 8. - P. 19-23.
85. Genetics Evaluation Guidelines for the Etiologic Diagnosis of Congenital Hearing Loss. Genetic Evaluation of Congenital Hearing Loss Expert Panel. ACMG statement // Genet. Med. - 2002. - Vol. 4 - P. 162-171.
86. Gorlin R.J., Toriello H.V., Cohen M.M. Hereditary hearing loss and its syndromes. - Oxford: Oxford University Press, 1995. - 457p.
87. Groce N.E. Everyone here spoke sign language: hereditary deafness on Martha's Vineyard. – Cambridge: Massachusetts Harvard University Press, 1985. - 169p.

88. Hamelmann C., Amedofu G.K., Albrecht K., Muntau B., Gelhaus A., Brobby G.W., Horstmann R.D. Pattern of connexin 26 (GJB2) mutations causing sensorineural hearing impairment in Ghana // *Hum. Mutat.* - 2001. - Vol. 18. - P. 84-85.
89. Hu D.N., Qiu W.Q., Wu B.T., Fang L.Z., Zhou F., Gu Y.P., Zhang Q.H., Yan J.H. Prevalence and genetic aspects of deaf mutism in Shanghai // *J. Med. Genet.* - 1987. - Vol. 24. - P. 589-592.
90. Huang S., Han D., Wang G., Yuan Y., Song Y., Han M., Chen Z., Dai P. Sensorineural hearing loss caused by mutations in two alleles of both GJB2 and SLC26A4 genes // *Int. J. Pediatr Otorhinolaryngol.* - 2013. - Vol. 77(3). - P. 379-383.
91. Kelley P.M., Harris D.J., Comer B.C., Askew J.W., Fowler T., Smith S.D., Kimberling W.J. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. // *Am. J. Hum. Genet.* - 1998. - Vol. 62. - P. 792–799.
92. Kelsell D.P., Dunlop J., Stevens H.P., Lench N.J., Liang J.N., Parry G., Mueller R.F., Leigh IM. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. // *Nature.* - 1997. - Vol. 387 - № 6628. - P. 80–3.
93. Kenna M.A., Rehm H.L., Robson C.D., Frangulov A., McCallum J., Yaeger D., Krantz I.D. Additional clinical manifestations in children with sensorineural hearing loss and biallelic GJB2 mutations: who should be offered GJB2 testing? // *Am. J. Med. Genet. A.* - 2007. - Vol. 143A(14) - P. 1560-1566.
94. Kiang D.T., Jin N., Tu Z.J., Lin H.H. Upstream genomic sequence of the human connexin26 gene // *Gene.* - 1997. - Vol. 199 - № 1-2. - P. 165–71.
95. Kikuchi T., Kimar R.S., Paul D.L. Adams J.C. Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis // *Anat. Embryol.* - 1995. - Vol. 191. - P. 101-118.

96. Kokotas H., Grigoriadou M., Villamar M., Giannoulia-Karantana A., del Castillo I., Petersen M.B. Hypothesizing an ancient Greek origin of the GJB2 35delG mutation: can science meet history? // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* - 2010. - Vol. 14. - P. 183–187.
97. Kokotas H., Petersen M.B., Willems P.J. Mitochondrial deafness // *Clin. Genet.* - 2007. - Vol. 71(5) - P. 379-391.
98. Kokotas H., Van Laer L., Grigoriadou M., Iliadou V., Economides J., Pomoni S., Pampanos A., Eleftheriades N., Ferekidou E., Korres S., Giannoulia-Karantana A., Van Camp G., Petersen M.B. Strong linkage disequilibrium for the frequent GJB2 35delG mutation in the Greek population // *Am. J. Med. Genet. A.* - 2008. - Vol. 146A. - P. 2879–2884.
99. Kudo T., Ikeda K., Kure S., Matsubara Y., Oshima T., Watanabe Ki., Kawase T., Narisawa K., Takasaka T. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population // *Am. J. Med. Genet.* - 2000. - Vol. 90(2). - P. 141-145.
100. Lezirovitz K., Pardono E., de Mello Auricchio M.T., de Carvalho E. Silva F.L., Lopes J.J., Abreu-Silva R.S., Romanos J., Batissoco A.C., Mingroni-Netto R.C. Unexpected genetic heterogeneity in a large consanguineous Brazilian pedigree presenting deafness // *Eur. J. Hum. Genet.* - 2008. - Vol. 16(1). - P. 89-96.
101. Li C.C., Mantel N. A simple method of estimating the segregation ratio under complete ascertainment // *Am. J. Hum. Genet.* - 1968. - Vol. 20(1) - P. 61-81.
102. Liu X.Z., Xia X.J., Ke X.M., Ouyang X.M., Du L.L., Liu Y.H., Angeli S., Telischi F.F., Nance W.E., Balkany T., Xu L.R. The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population // *Hum. Genet.* - 2002. - Vol. 111(4-5). - P. 394-397.
103. Maeda S., Nakagawa S., Suga M., Yamashita E., Oshima A., Fujiyoshi Y., Tsukihara T. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution // *Nature.* - 2009. - Vol. 458 - № 7238. - P. 597–602.

104. Mani R.S., Ganapathy A., Jalvi R., Srikumari Srisailapathy C.R., Malhotra V., Chadha S., Agarwal A., Ramesh A., Rangasayee R.R., Anand A. Functional consequences of novel connexin 26 mutations associated with hereditary hearing loss // *Eur. J. Hum. Genet.* - 2009. - Vol. 17(4). - P. 502-509.
105. Marazita M.L., Ploughman L.M., Rawlings B., Remington E., Arnos K.S., Nance W.E. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population // *Am. J. Med. Genet.* - 1993. - Vol. 46 - № 5. - P. 486-491.
106. Middleton A., Hewison J., Mueller R. Prenatal diagnosis for inherited deafness - What is the potential demand? // *J. Genet. Couns.* - 2001. - Vol. 10. - P. 121-131.
107. Middleton A., Hewison J., Mueller R.F. Attitudes of deaf adults toward genetic testing for hereditary deafness // *Am. J. Hum. Genet.* - 1998. - Vol. 63. - P. 1175-1180.
108. MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. <http://www.mitomap.org>. 2015.
109. Morell R.J., Kim H.J., Hood L.J., Goforth L., Friderici K., Fisher R., Van Camp G., Berlin C.I., Oddoux C., Ostrer H., Keats B., Friedman T.B. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness // *N. Engl. J. Med.* - 1998. - Vol. 339. - P. 1500–1505.
110. Morton C.C, Nance W.E. Newborn hearing screening - A silent revolution // *N. Engl. J. Med.* - 2006. - Vol. 354. - P. 2151–2164.
111. Morton N.E. Genetic epidemiology of hearing impairment // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* - 1991. - Vol. 630. - P. 16-31.
112. Mount D.B., Romero M.F. The *SLC26* gene family of multifunctional anion exchangers // *Pflugers Arch.* - 2004. – Vol. 447(5). - P. 710-721.

113. Najmabadi H., Cucci R.A., Sahebjam S., Kouchakian N., Farhadi M., Kahrizi K., Arzhangi S., Daneshmandan N., Javan K., Smith RJ. GJB2 mutations in Iranians with autosomal recessive non-syndromic sensorineural hearing loss // *Hum. Mut.* - 2002. - Vol. 19(5). - P. 572-578.
114. Nance W.E. The genetics of deafness // *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* - 2003. - Vol. 9. - P. 109-119.
115. Nance W.E., Kearsey M.J. Relevance of connexin deafness (DFNB1) to human evolution // *Am. J. Hum. Genet.* - 2004. - Vol. 74(6). - P. 1081-1087.
116. Nance W.E., Liu X.Z., Pandya A. Relation between choice of partner and high frequency of connexin-26 deafness // *Lancet.* - 2000 – Vol. 356(9228). - P. 500-501.
117. Ohtsuka A., Yuge I., Kimura S., Namba A., Abe S., Van Laer L., Van Camp G., Usami S. GJB2 deafness gene shows a specific spectrum of mutations in Japan, including a frequent founder mutation // *Hum. Genet.* - 2003. - Vol. 112(4). - P. 329-333.
118. Padden C., Humphries T. *Deaf in America: voices from a culture.* – Cambridge, MA: Harvard University Press, 1988. - 134p.
119. Park H.J., Hahn S.H., Chun Y.M., Park K., Kim H.N. Connexin26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss // *Laryngoscope.* - 2000. - Vol. 110. - P. 1535-1538.
120. Petersen M.B. Non-syndromic autosomal-dominant deafness // *Clin. Genet.* - 2002. - Vol. 62(1). - P. 1-13.
121. Petersen M.B., Wang Q., Willems P.J. Sex-linked deafness // *Clin. Genet.* - 2008. - Vol. 73(1). - P. 14-23.
122. Petersen M.B., Willems P.J. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness // *Clin. Genet.* - 2006. - Vol. 69. - P. 371–392.

123. Posukh O., Pallares-Ruiz N., Tadinova V., Osipova L., Claustres M., Roux A.F. First molecular screening of deafness in the Altai Republic population // BMC Med. Genet. - 2005. - Vol. 6(1). - P. 12.
124. Prezioso C.T. Cultural aspects of deafness (the Deaf community). In: Israel J., ed. An introduction to deafness: a manual for genetic counselors. - Washington DC: Gallaudet Research Institute. Gallaudet University, 1995. - p.133-145.
125. Ramchander P.V., Nandur V.U., Dwarakanath K., Vishnupriya S., Padma T. Prevalence of Cx26 (GJB2) gene mutation causing recessive nonsyndromic hearing impairment in India // Int. J. Hum. Genet. - 2005. - Vol. 5. - P. 241-246.
126. RamShankar M., Girirajan S., Dagan O., Ravi Shankar H.M., Jalvi R., Rangasayee R., Avraham K. B., Anand A. Contribution of connexin26 (GJB2) mutations and founder effect to non-syndromic hearing loss in India // J. Med. Genet. - 2003. - Vol. 40. - e.68.
127. Rapin I. Consequences of congenital hearing loss: A long-term view // Journal of Otolaryngology. - 1978. - Vol. 7(6). - P. 473–483.
128. Rose, S.P. Genetic Studies of Profound Prelingual Deafness. - 1975. - PhD Thesis (Indiana University).
129. Ruben R.J. The history of the genetics of hearing impairment // Ann NY Acad Sci. - 1991. - Vol. 630. - P. 6-15.
130. Salvador, M.Q., Fox M.A., Schimmenti L.A., Telatar M., Yazdani S., Grody W.W. Homozygosity for the connexin-26 167delT mutation in an Ashkenazi Jewish family. (Abstract). Annual Meeting, American Society of Human Genetics, Philadelphia, PA // Am. J. Hum. Genet. - 2000. - Vol. 67 (Suppl. 2). - P. 202.
131. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. - Cold Spring Harbor laboratory press, 1989.

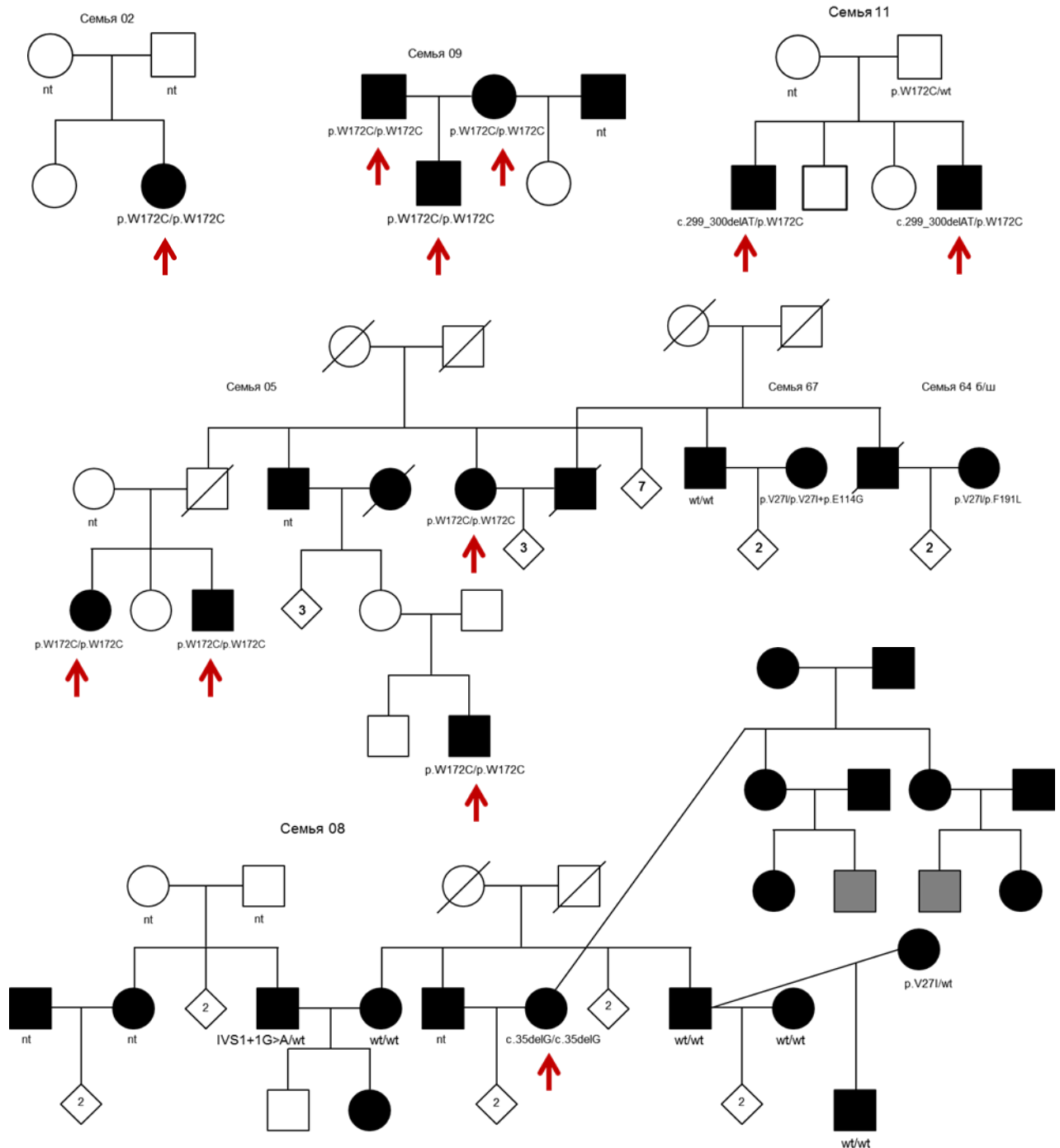
132. Schein J., Delk M. The Deaf Population of the United States. - Silver Spring, MD: National Association of the Deaf, 1974. - 336p.
133. Schein, J. The Deaf community. In H. Davis & S. R. Silverman (Eds.), Hearing and deafness (4th. ed., pp. 511–523). - New York: Holt, Rinehart, & Winston, 1978.
134. Scott D.A., Carmi R., Elbedour K., Duyk G.M., Stone E.M., Sheffield V.C. Nonsyndromic autosomal recessive deafness is linked to the DFNB1 locus in a large inbred Bedouin family from Israel // *Am. J. Hum. Genet.* - 1995. - Vol. 57. - P. 965-968.
135. Sirmaci A. A founder TMIE mutation is a frequent cause of hearing loss in southeastern Anatolia // *Clin. Genet.* - 2009. - Vol. 75(6). - P. 562-567.
136. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Shaw K., Phillips A., Cooper D.N. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine // *Hum. Genet.* - 2014. - Vol. 133(1). - P. 1-9.
137. Stern S.J., Arnos K.S., Murrelle L., Welch K.O., Nance W.E., Pandya A. Attitudes of Deaf and hard of hearing subjects toward genetic testing and prenatal diagnosis of hearing loss // *Journal of Medical Genetics.* - 2002. - Vol. 39. - P. 449-453.
138. Tekin M., Arici Z.S. Genetic epidemiological studies of congenital/prelingual deafness in Turkey: population structure and mating type are major determinants of mutation identification // *Am. J. Med. Genet. A.* - 2007. - Vol. 143A(14). - P. 1583-1591.
139. Tekin M., Xia X.J., Erdenetungalag R., Cengiz F.B., White T.W., Radnaabazar J., Dangaasuren B., Tastan H., Nance W.E., Pandya A. GJB2 mutations in Mongolia: complex alleles, low frequency, and reduced fitness of the deaf // *Ann. Hum. Genet.* - 2010. - Vol. 74(2). - P. 155-164.

140. Toriello H.V., Smith S.D. Hereditary Hearing Loss and Its Syndromes / Third Edition. - USA Oxford Monographs on Medical Genetics, 2013. - 756p.
141. Tsukada K., Nishio S., Usami S. Deafness Gene Study Consortium. A large cohort study of GJB2 mutations in Japanese hearing loss patients // Clin. Genet. - 2010. - Vol. 78(5). - P. 464-470.
142. Van Camp G., Smith R.J.H. Hereditary Hearing Loss Homepage: URL: <http://hereditaryhearingloss.org>, 2015.
143. Van Laer L., Coucke P., Mueller R.F., Caethoven G., Flothmann K., Prasad S.D., Chamberlin G.P., Houseman M., Taylor G.R., Van de Heyning C.M., Fransen E., Rowland J., Cucci R.A., Smith R.J., Van Camp G. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment // J. Med. Genet. - 2001. - Vol. 38(8). - P. 515-518.
144. Venail F., Roux A.F., Pallares-Ruiz N., Claustres M., Blanchet P., Gardiner Q., Mondain M. Nonsyndromic 35 delG mutation of the connexin 26 gene associated with deafness in syndromic children: two case reports // Laryngoscope. - 2004. - Vol. 114(3). - P. 566-569.
145. Wattanasirichaigoon D., Limwongse C., Jariengprasert C., Yenchitsomanus P.T., Tocharoenthanaphol C., Thongnoppakhun W., Thawil C., Charoenpipop D., Pho-iam T., Thongpradit S., Duggal P. High prevalence of V37I genetic variant in the connexin-26 (GJB2) gene among non-syndromic hearing-impaired and control Thai individuals // Clin. Genet. - 2004. - Vol. 66, № 5. - P. 452-460.
146. Wilch E., Azaiez H., Fisher R.A., Elfenbein J., Murgia A., Birkenhäger R., Bolz H., Da Silva-Costa S.M., Del Castillo I., Haaf T., Hoefsloot L., Kremer H., Kubisch C., Le Marechal C., Pandya A., Sartorato E.L., Schneider E., Van Camp G., Wuyts W., Smith R.J., Friderici K.H. A novel DFNB1 deletion allele supports the existence of a distant cis-regulatory region that controls GJB2 and GJB6 expression // Clin. Genet. - 2010. - Vol. 78(3). - P. 267-274.

147. Wiley S., Choo D., Meinzen-Derr J., Hilbert L., Greinwald J. GJB2 mutations and additional disabilities in a pediatric cochlear implant population // *Int. J. Pediatr Otorhinolaryngol.* - 2006. - Vol. 70(3). – P. 493-500.
148. Winata S., Arhya I.N., Moeljopawiro S., Hinnant J.T., Liang Y., Friedman T.B., Asher J.H.Jr. Congenital non-syndromal autosomal recessive deafness in Bengkala, an isolated Balinese village // *J. Med. Genet.* - 1995. - Vol. 32(5). - P. 336-343.
149. Yan D., Park H.J., Ouyang X.M., Pandya A., Doi K., Erdenetungalag R., Du L.L., Matsushiro N., Nance W.E., Griffith A.J., Liu X.Z. Evidence of a founder effect for the 235delC mutation of GJB2 (connexin 26) in east Asians // *Hum. Genet.* – 2003. - Vol. 114. - P. 44–50.
150. Yuan Y., You Y., Huang D., Cui J., Wang Y., Wang Q., Yu F., Kang D., Yuan H., Han D., Dai P. Comprehensive molecular etiology analysis of nonsyndromic hearing impairment from typical areas in China // *J. Transl. Med.* - 2009. – Vol. 7. – P. 79.
151. Zainal S.A., Md Daud M.K., Abd Rahman N. et al. Mutation detection in GJB2 gene among Malays with non-syndromic hearing loss // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* - 2012. - Vol. 76(8). - P. 1175-1179.

Приложение I

Cx26-позитивные семьи

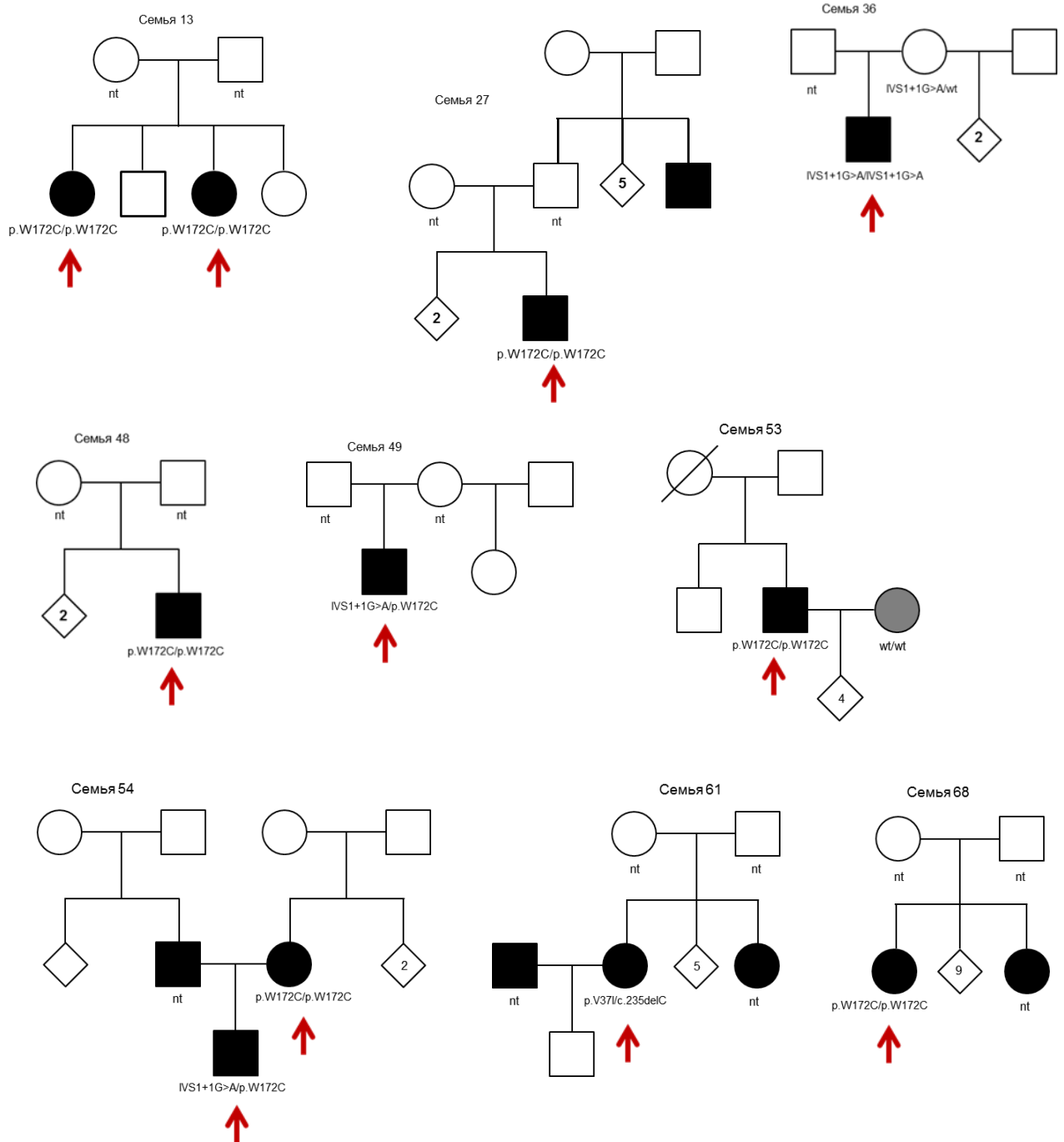


Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г), имеющих биаллельные рецессивные мутации гена *GJB2* (Cx26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. Индивидуумы, гомозиготные или компаунд-гетерозиготные по рецессивным мутациям гена *GJB2*, выделены стрелками.

Приложение I (Продолжение)

Сх26-позитивные семьи

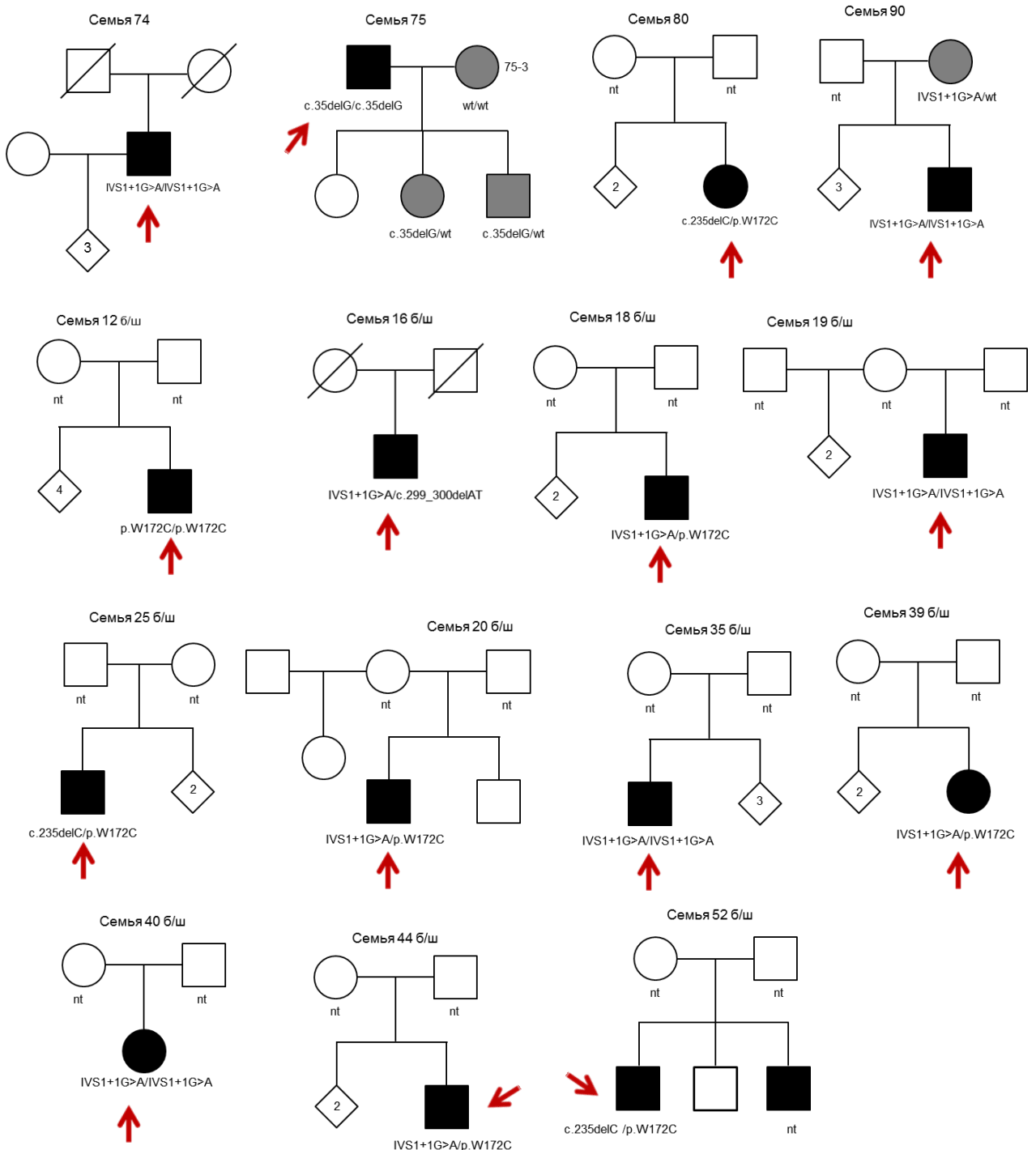


Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г), имеющих биаллельные рецессивные мутации гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. Индивидуумы, гомозиготные или компаунд-гетерозиготные по рецессивным мутациям гена *GJB2*, выделены стрелками.

Приложение I (Окончание)

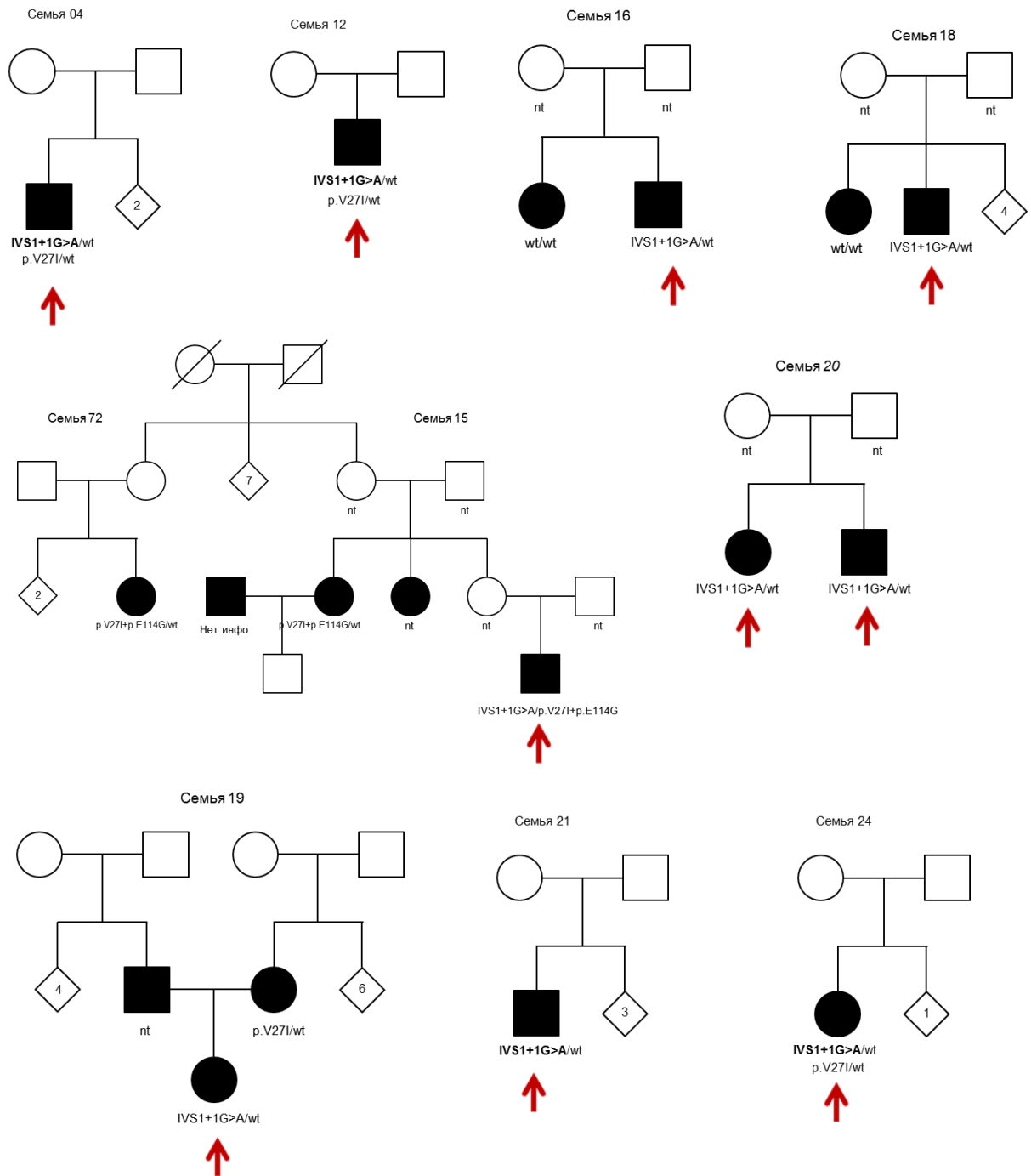
Сх26-позитивные семьи



Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г), имеющих биаллельные рецессивные мутации гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. Индивидуумы, гомозиготные или компаунд-гетерозиготные по рецессивным мутациям гена *GJB2*, выделены стрелками.

Приложение II

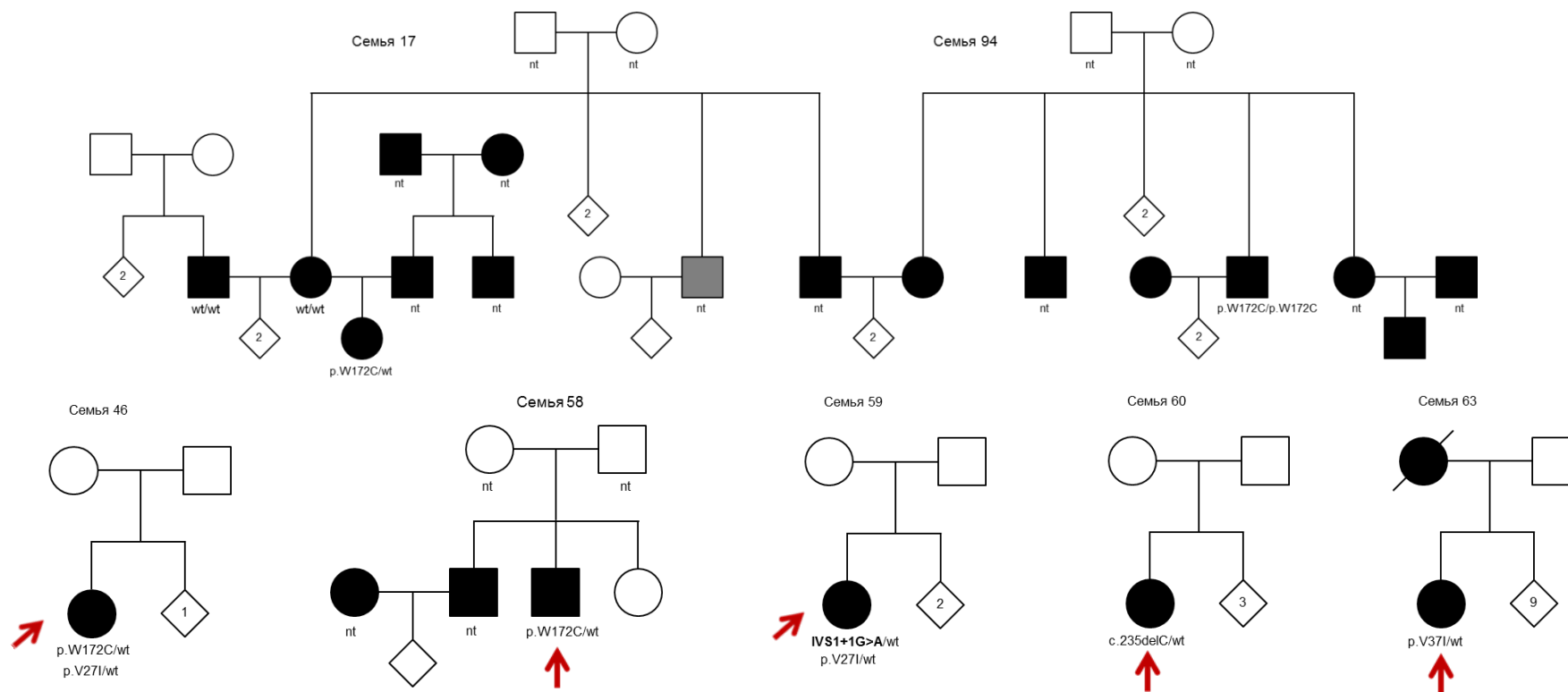
Сх26-негативные семьи с одной рецессивной мутацией гена *GJB2* (Сх26)

Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (НТ/Г), имеющих одну рецессивную мутацию гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. Индивидуумы с одной рецессивной мутацией гена *GJB2* выделены стрелками.

Приложение II (Продолжение)

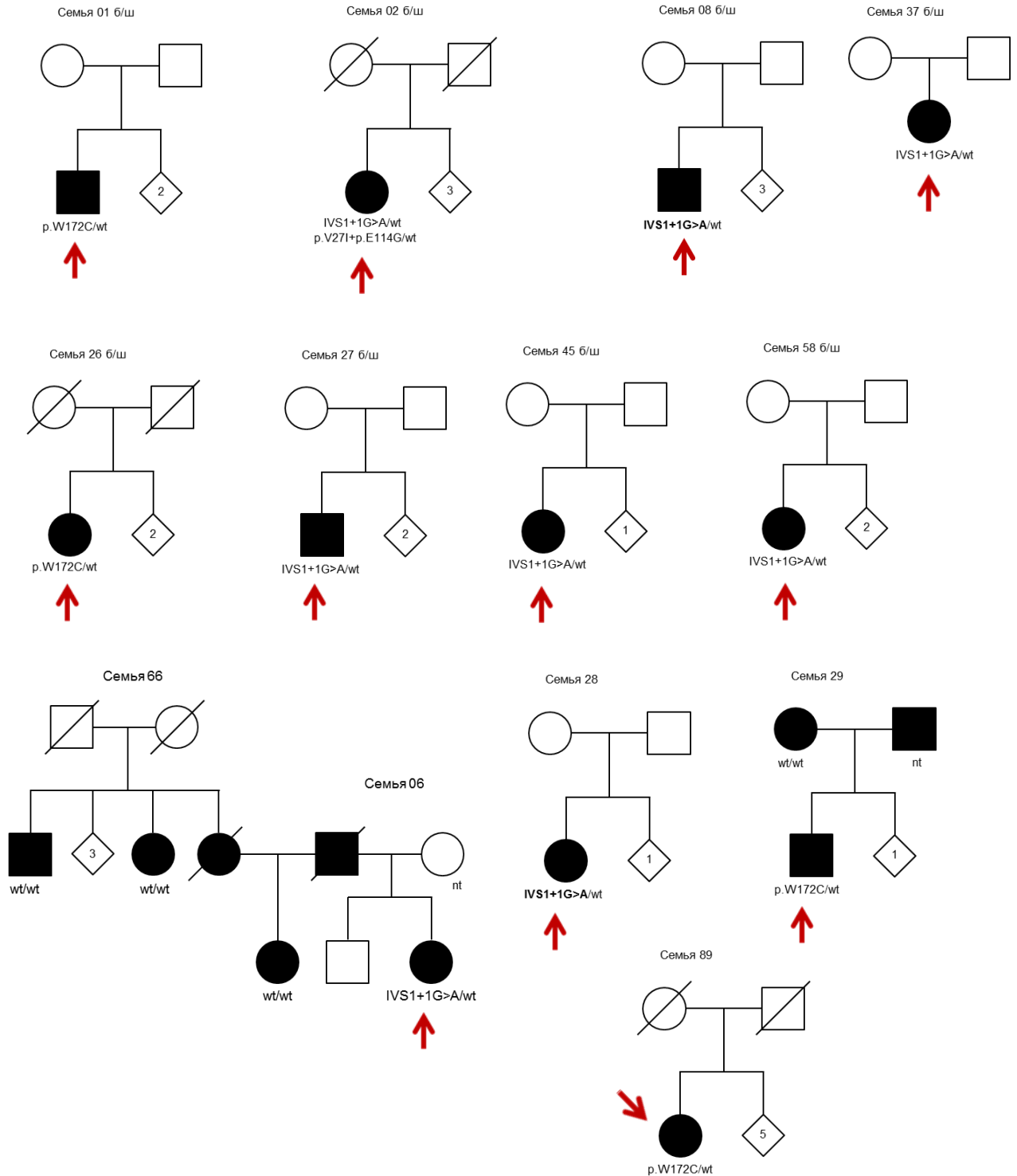
Сх26-негативные семьи с одной рецессивной мутацией гена *GJB2* (Сх26)



Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г), имеющих одну рецессивную мутацию гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. Индивидуумы с одной рецессивной мутацией гена *GJB2* выделены стрелками.

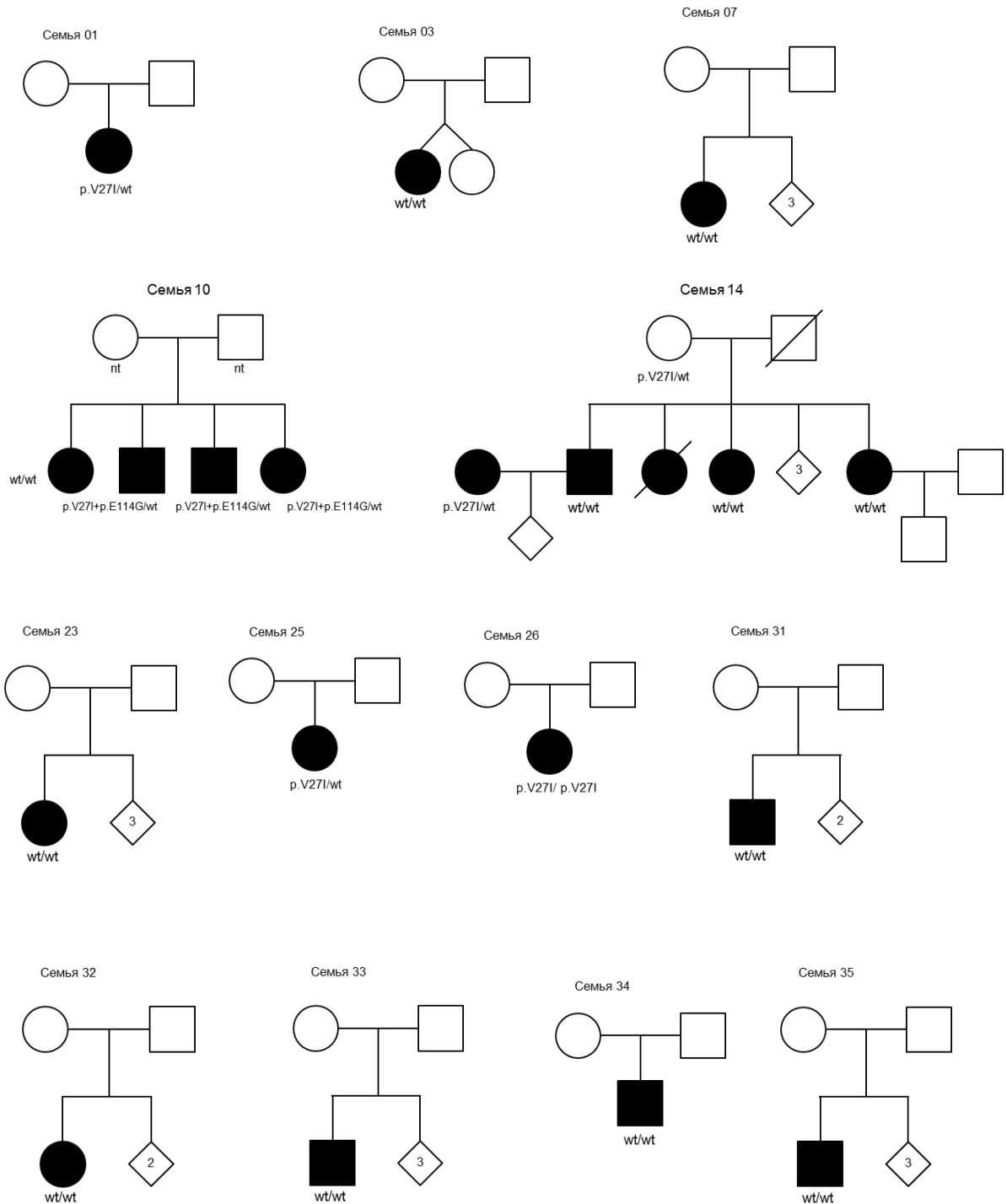
Приложение II (Окончание)

Сх26-негативные семьи с одной рецессивной мутацией гена *GJB2* (Сх26)

Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г), имеющих одну рецессивную мутацию гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. Индивидуумы с одной рецессивной мутацией гена *GJB2*, выделены стрелками

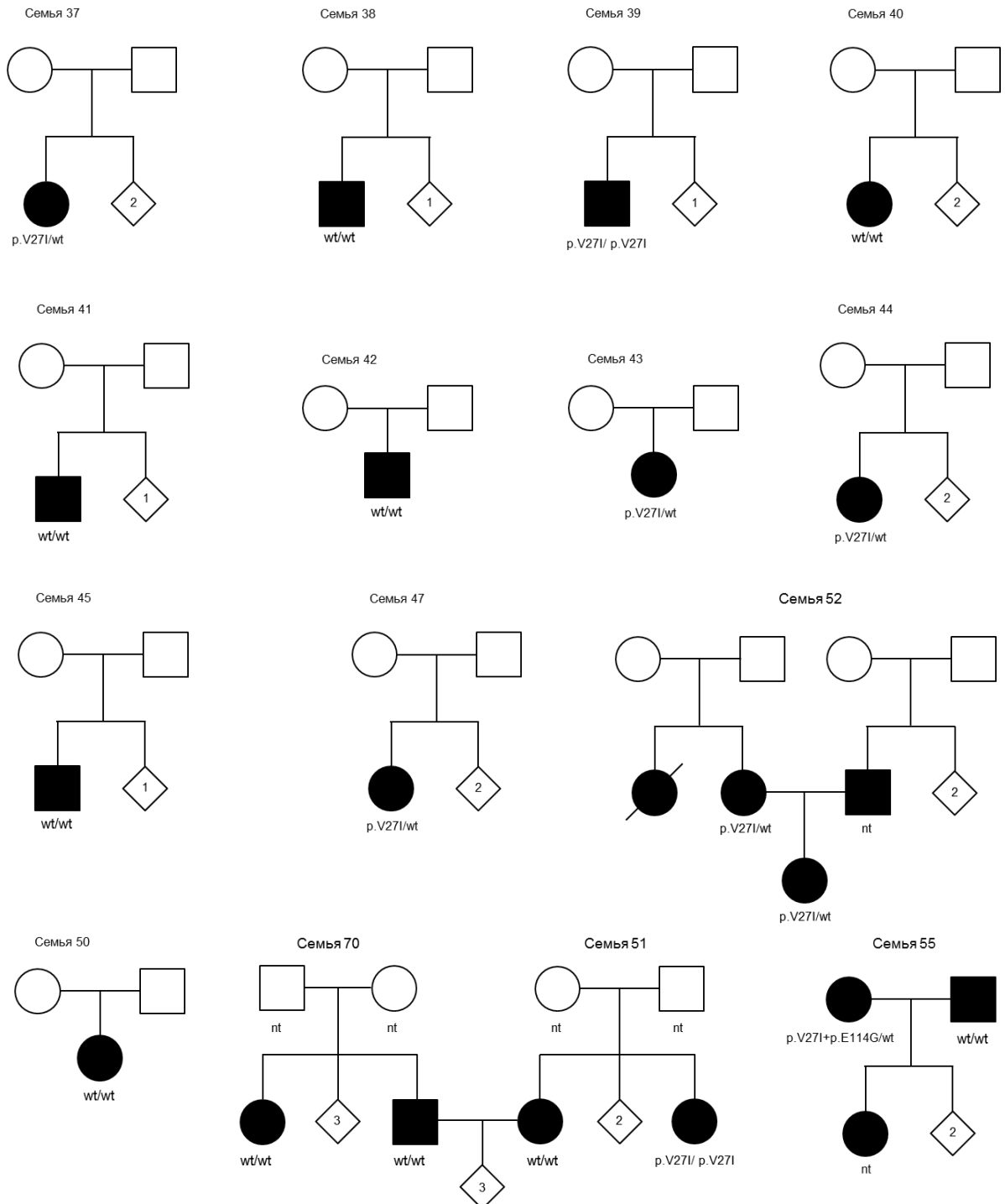
Приложение III

Сх26-негативные семьи без мутаций гена *GJB2* (Сх26)Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г) без мутаций гена *GJB2* (Сх26)

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. p.V271I, p.E114G – полиморфные варианты гена *GJB2*.

Приложение III (Продолжение)

Сх26-негативные семьи без мутаций гена *GJB2* (Сх26)

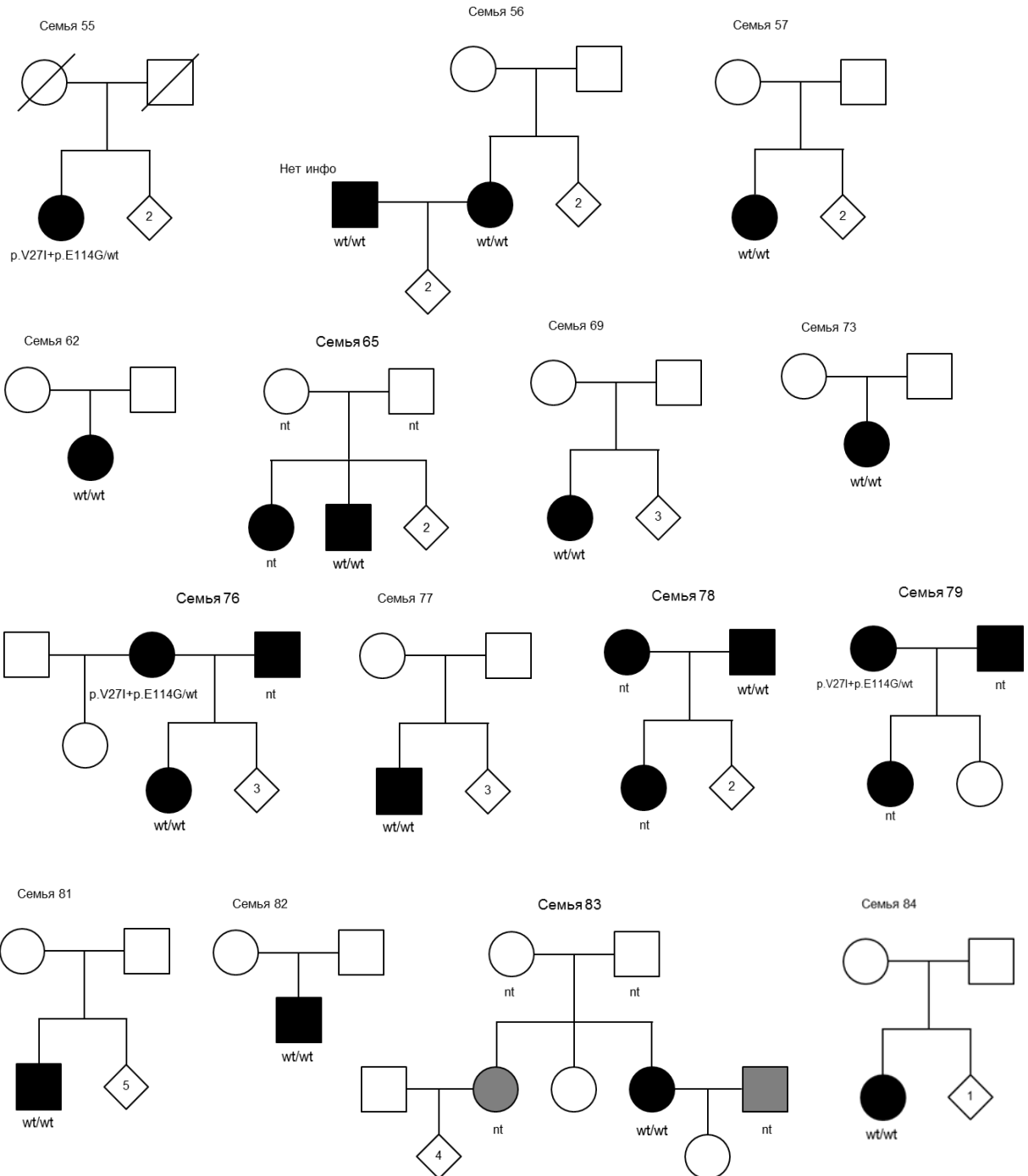


Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г) без мутаций гена *GJB2* (Сх26)

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. p.V271, p.E114G – полиморфные варианты гена *GJB2*.

Приложение III (Продолжение)

Сх26-негативные семьи без мутаций гена *GJB2* (Сх26)

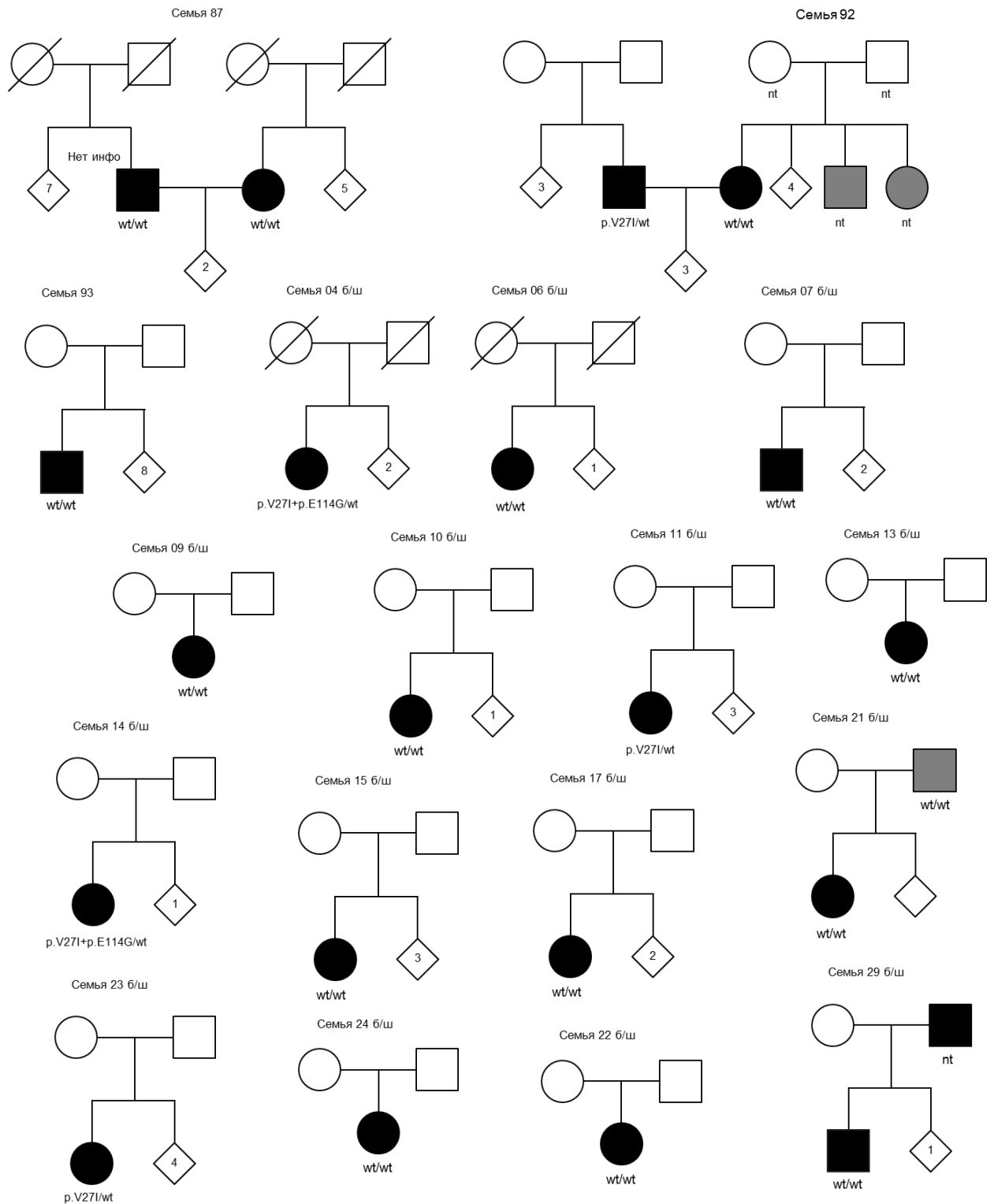


Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г) без мутаций гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. p.V271I, p.E114G – полиморфные варианты гена *GJB2*.

Приложение III (Продолжение)

Сх26-негативные семьи без мутаций гена *GJB2* (Сх26)

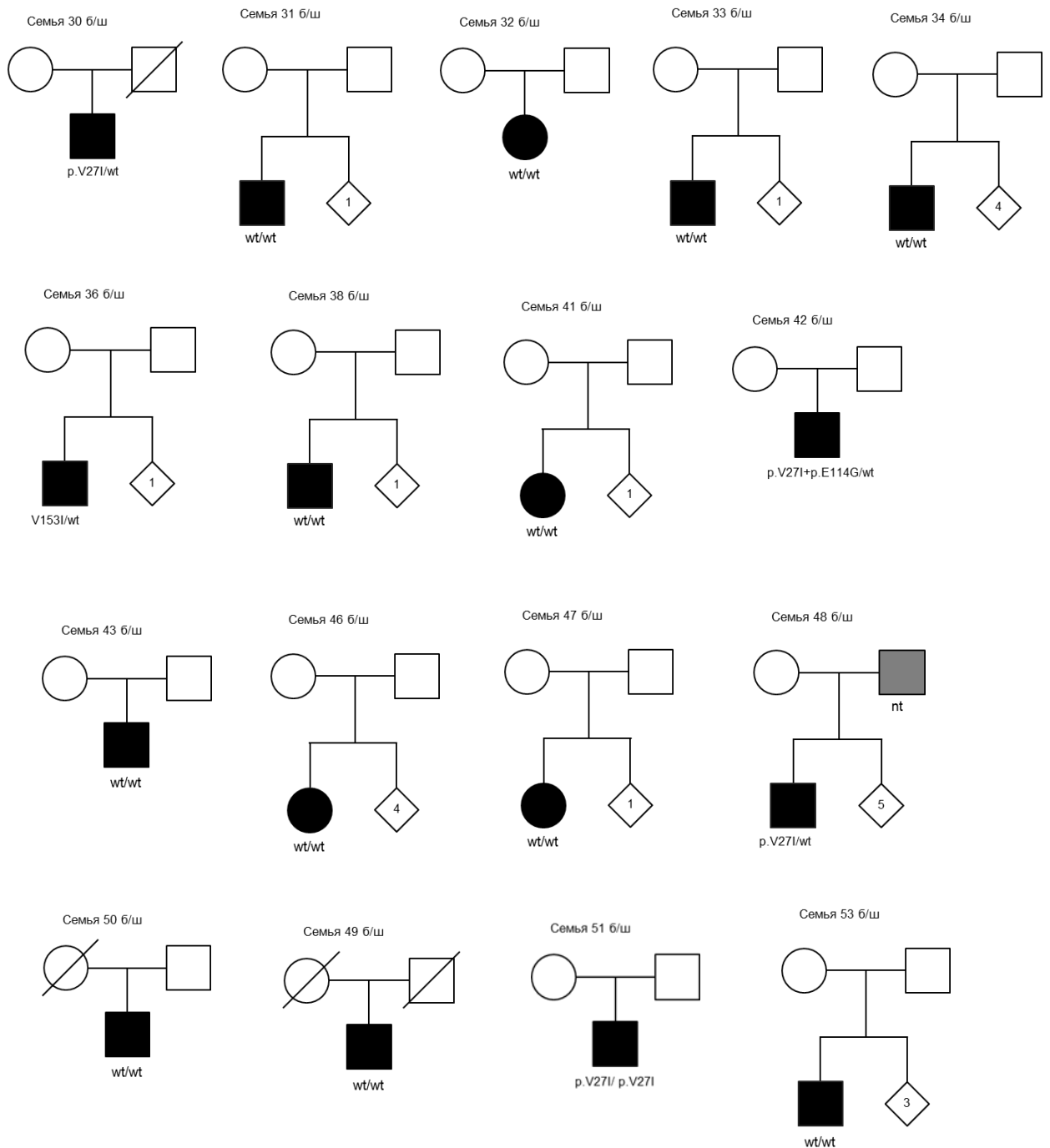


Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г) без мутаций гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. p.V271I, p.E114G – полиморфные варианты гена *GJB2*.

Приложение III (Продолжение)

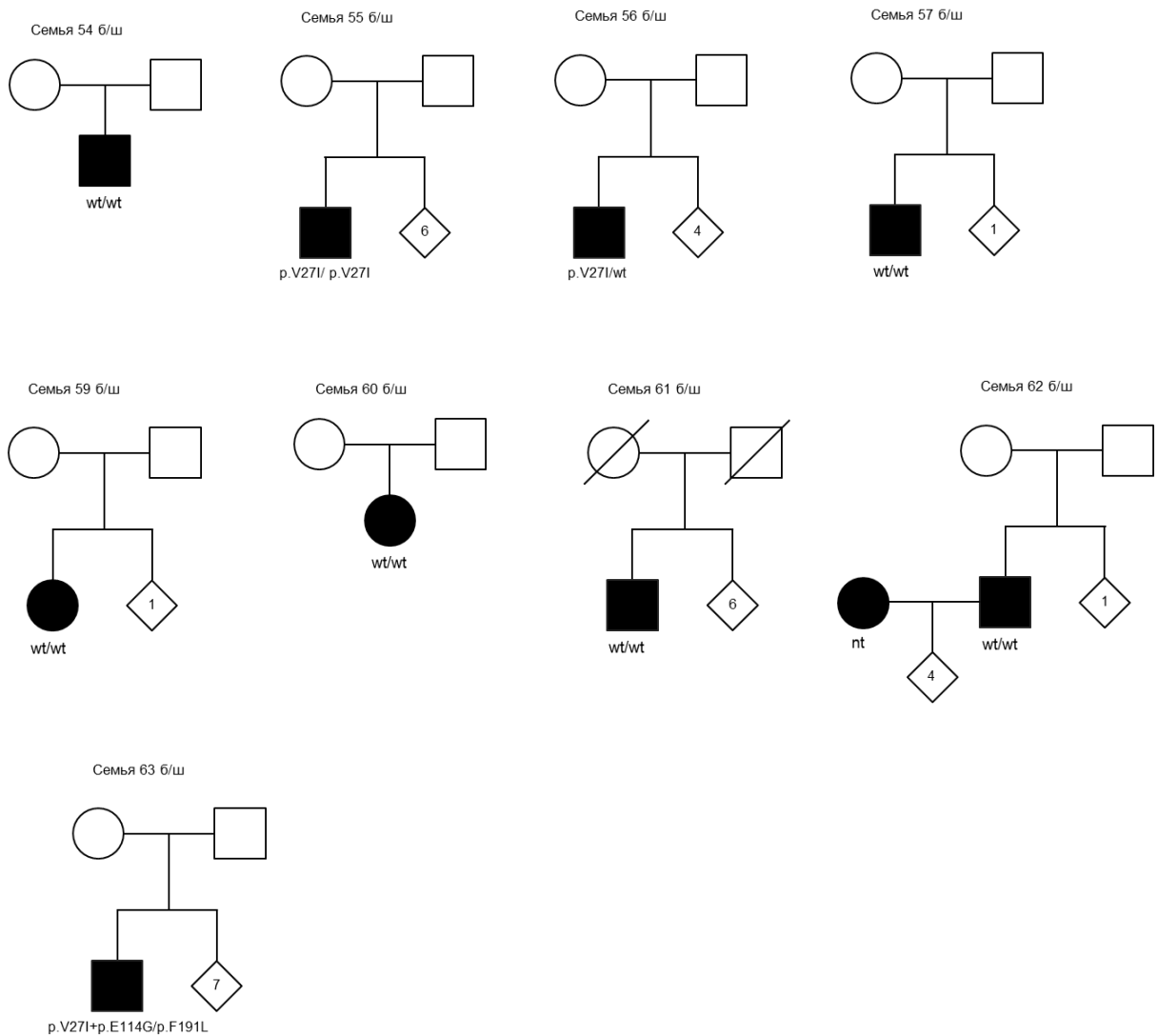
Сх26-негативные семьи без мутаций гена *GJB2* (Сх26)



Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г) без мутаций гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г), серым цветом - с умеренной тугоухостью (II-III степень). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. p.V271, p.E114G – полиморфные варианты гена *GJB2*.

Приложение III (Окончание)

Сх26-негативные семьи без мутаций гена *GJB2* (Сх26)

Родословные больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью тяжелой степени и глухотой (ННТ/Г) без мутаций гена *GJB2* (Сх26).

Черным цветом выделены индивидуумы с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью III-IV степени и глухотой (ННТ/Г). wt – «нормальный» *GJB2*-аллель, nt- не тестировалось. p.V27I, p.E114G, p.F191L – полиморфные варианты гена *GJB2*.