

doi 10.18699/vjgb-26-82

Новый вариант c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) в гене *SLC26A4*, ассоциированный с рецессивно наследуемой тугоухостью

М.В. Зыцарь ^{1, 2#}, В.Ю. Данильченко ^{1, 2#}, А.А. Бондарь ³, К.Е. Орищенко ^{1, 2}, О.А. Посух ^{1, 2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 zytzar@bionet.nsc.ru

Аннотация. Патогенные варианты в гене *SLC26A4* (solute carrier family 26, member 4) – частая причина наследственной потери слуха. Ген *SLC26A4* кодирует трансмембранный белок пендрин из семейства анионных транспортеров SLC26, с преимущественной экспрессией в тканях внутреннего уха, щитовидной железы и почек. Патогенные *SLC26A4*-варианты вызывают несиндромальную рецессивно наследуемую потерю слуха (DFNB4) и синдром Пендреда (сенсоневральная тугоухость и дисфункция щитовидной железы). Во многих исследованиях при анализе гена *SLC26A4*, наряду с пациентами, у которых обнаружено два рецессивных патогенных *SLC26A4*-варианта (M2-пациенты) и может быть поставлен точный молекулярно-генетический диагноз, часто выявляется группа пациентов только с одним патогенным *SLC26A4*-вариантом (M1-пациенты), что создает диагностическую проблему. Наличие M1-пациентов может отражать не обнаруженные рутинными методами диагностики вариации числа копий (CNV, делеции/дупликации в гене) *SLC26A4*. Цель работы – поиск делеций/дупликаций в гене *SLC26A4* методом MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) у 13 пациентов, относящихся к коренному населению Республики Тыва (Южная Сибирь), у которых при изучении этиологии наследственной потери слуха был найден только один патогенный *SLC26A4*-вариант (M1-пациенты). В результате MLPA-анализа и молекулярного клонирования в образцах ДНК трех M1-пациентов из двух родственных тувинских семей обнаружен новый вариант – тандемная дупликация 12 нуклеотидов (c.1185_1196dup) в экзоне 10 гена *SLC26A4*, которая является внутрирамочной инсерцией, приводящей к включению четырех дополнительных аминокислотных остатков Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) в высококонсервативном районе белка пендрин. Большая часть предсказательных программ прогнозирует повреждающее воздействие варианта c.1185_1196dup на структуру и функцию белка пендрин. В пользу патогенности свидетельствует его сегрегация с патологией слуха в родословной пациентов, у которых он найден в компаунд-гетерозиготном состоянии с патогенными *SLC26A4*-вариантами, а также его отсутствие в контрольной выборке тувинцев и мировых базах геномных данных. Для подтверждения потенциально негативных эффектов нового варианта c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) и его ассоциации с патологией слуха необходимы функциональные *in vitro* исследования.

Ключевые слова: потеря слуха; патогенные варианты гена *SLC26A4*; метод MLPA; инделы

Для цитирования: Зыцарь М.В., Данильченко В.Ю., Бондарь А.А., Орищенко К.Е., Посух О.А. Новый вариант c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) в гене *SLC26A4*, ассоциированный с рецессивно наследуемой тугоухостью. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(5):814-823. doi 10.18699/vjgb-26-82

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке бюджетного проекта FWNR-2026-0027 Института цитологии и генетики СО РАН и гранта Министерства науки и высшего образования РФ FSUS-2024-0018.

A novel variant c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) in the *SLC26A4* gene associated with recessive hearing loss

M.V. Zytzar ^{1, 2#}, V.Yu. Danilchenko ^{1, 2#}, A.A. Bondar ³, K.E. Orishchenko ^{1, 2}, O.L. Posukh ^{1, 2}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Knorre Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 zytzar@bionet.nsc.ru

Abstract. Pathogenic variants in the *SLC26A4* gene (solute carrier family 26, member 4) are a common cause of inherited hearing loss. The *SLC26A4* gene encodes the transmembrane protein pendrin, a member of the SLC26 anion transporter family, with predominant expression in the inner ear, thyroid, and kidney tissues. Pathogenic *SLC26A4* variants cause nonsyndromic recessive hearing loss (DFNB4) and Pendred syndrome (sensorineural hearing loss and thyroid dysfunction). In many studies analyzing the *SLC26A4* gene, along with patients who have two recessive pathogenic

© Зыцарь М.В., Данильченко В.Ю., Бондарь А.А., Орищенко К.Е., Посух О.А., 2026

Авторы внесли равный вклад в эту работу.

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

SLC26A4 variants (M2 patients) and an accurate molecular genetic diagnosis can be made, a group of patients with only one pathogenic *SLC26A4* variant (M1 patients) is often identified, which creates a diagnostic problem. The presence of M1 patients may reflect copy number variations (CNVs, deletions/duplications) in the *SLC26A4* gene that are not detected by routine diagnostic methods. The aim of the study is to search for deletions/duplications in the *SLC26A4* gene using the MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) method in thirteen patients belonging to the indigenous people of the Tyva Republic (Southern Siberia), in whom only one pathogenic *SLC26A4* variant (M1 patients) was identified during the study of the etiology of hereditary hearing loss. As a result of MLPA analysis and molecular cloning in DNA samples of three M1 patients from two related Tuvanian families, a novel variant was revealed – tandem duplication of twelve nucleotides (c.1185_1196dup) in exon 10 of the *SLC26A4* gene. This variant is an in-frame insertion resulting in the inclusion of four additional amino acid residues Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) in a highly conserved region of the pendrin protein. Most predictive programs predict the damaging effect of the c.1185_1196dup variant on the structure and function of the pendrin protein. The pathogenicity of the c.1185_1196dup variant is supported by its segregation with hearing pathology in the pedigree of patients in whom it was found in a compound heterozygous state with pathogenic *SLC26A4* variants, as well as its absence in a control sample of Tuvinians and in the world genomic databases. Functional *in vitro* studies are needed to confirm the potentially deleterious effects of the novel c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) variant and its association with hearing pathology.

Key words: hearing loss; *SLC26A4*; pathogenic variants of the *SLC26A4* gene; MLPA method; indels

For citation: Zysar M.V., Danilchenko V.Yu., Bondar A.A., Orishchenko K.E., Posukh O.L. A novel variant c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) in the *SLC26A4* gene associated with recessive hearing loss. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(5):814-823. doi 10.18699/vjgb-26-82

Введение

Наследственная потеря слуха является моногенным заболеванием с уникально высокой гетерогенностью генетического контроля и может быть изолированной или же быть одним из клинических признаков значительного числа различных синдромов. В настоящее время, согласно базе данных Hereditary Hearing Loss Homepage (<https://hereditaryhearingloss.org>, 8 апреля 2026 г.), известно, что патогенные варианты более чем в 150 различных генах, включая гены митохондриальной ДНК, ассоциированы с несиндромальными (изолированными) формами потери слуха, имеющими различные типы наследования: ауто-сомно-доминантное (DFNA-локусы), ауто-сомно-рецессивное (DFNB-локусы) и X-сцепленное (DFNX-локусы). Патогенные варианты в гене *GJB2* (gap junction protein, beta-2, 13q12.11, OMIM #121011), кодирующем трансмембранный белок коннексин 26, приводят к несиндромальной ауто-сомно-рецессивной глухоте, тип 1A (DFNB1A, OMIM #220290) – одной из наиболее распространенных форм потери слуха во многих популяциях (Del Castillo F., Del Castillo I., 2017). Второй по распространенности причиной наследственной потери слуха, по крайней мере, в азиатских популяциях, считаются патогенные варианты в гене *SLC26A4* (solute carrier family 26, member 4, 7q22.3, OMIM #605646) (Park et al., 2003; Albert et al., 2006; Yuan et al., 2009; Du et al., 2013; Tsukada et al., 2015; Koohiyan, 2019; Lee et al., 2023).

Ген *SLC26A4* кодирует белок пендрин, принадлежащий к семейству анионных транспортеров SLC26, который преимущественно экспрессируется в тканях внутреннего уха, щитовидной железы и почек и участвует в транспорте различных анионов (Everett et al., 1997; Mount, Romero, 2004). В тканях внутреннего уха пендрин поддерживает гомеостаз эндолимфы, обеспечивая обмен анионами Cl⁻/HCO₃⁻, а в клетках щитовидной железы он опосредует отток I⁻ из фолликулярных клеток щитовидной железы в просвет фолликулов (Everett et al., 1997; Wangemann et al., 2007; Tesolin et al., 2021). Патогенные *SLC26A4*-варианты,

нарушая структуру и функции белка пендрин, могут вызывать как несиндромальную рецессивно наследуемую потерю слуха (DFNB4, OMIM #600791), так и синдром Пендреда (Pendred syndrome, OMIM #274600), который сочетает сенсоневральную тугоухость и дисфункцию щитовидной железы (зоб). Важный клинический признак *SLC26A4*-обусловленной потери слуха – расширенный вестибулярный водопровод преддверия (EVA, enlarged vestibular aqueduct, OMIM #603545) и другие аномалии структур внутреннего уха, выявляемые с помощью компьютерной томографии (КТ) височных костей.

Для пациентов с патогенными *SLC26A4*-вариантами характерна широкая вариабельность клинических симптомов: манифестация потери слуха может быть врожденной или возникать в более старшем возрасте; степень проявления – от умеренных нарушений слуховой функции до полной глухоты, часто со значимой прогрессией; выраженность аномалий структур внутреннего уха может широко варьировать, также как начало и степень дисфункции щитовидной железы при синдроме Пендреда (Wangemann et al., 2007; Griffith, Wangemann, 2011; Mey et al., 2019; Roesch et al., 2021; Honda, Griffith, 2022).

Скрининг патогенных *SLC26A4*-вариантов – важная часть молекулярно-генетической диагностики нарушений слуховой функции и наиболее актуален у пациентов с EVA и другими аномалиями органа слуха. Тем не менее, несмотря на многочисленные исследования, вклад гена *SLC26A4* в этиологию нарушений слуха, по-видимому, все еще недостаточно точно оценен: отмечается значительная вариабельность как в доле пациентов с двумя рецессивными патогенными *SLC26A4*-вариантами (*SLC26A4*-биаллельные пациенты, или M2-пациенты), так и в доле пациентов, у которых был обнаружен только один патогенный *SLC26A4*-вариант (*SLC26A4*-моноаллельные пациенты, или M1-пациенты) (Azaiez et al., 2007; Choi B. et al., 2009; Chattaraj et al., 2013; Pique et al., 2014; Rose et al., 2017; Smits et al., 2022; Tian et al., 2024). Кроме того, у значительного числа пациентов с клиническими призна-

ками, присущими *SLC26A4*-обусловленной потере слуха, патогенные варианты этого гена не были обнаружены (M0-пациенты). Такая вариабельность в результатах диагностики может быть обусловлена гетерогенностью исследуемых когорт пациентов в разных исследованиях, которые различались как по числу, так и по критериям включения пациентов в обследование; возможным участием других генов и/или факторов среды (Yang et al., 2007, 2009; Pique et al., 2014; Chattaraj et al., 2017; Chao et al., 2019; Smits et al., 2022); различными методами анализа гена *SLC26A4*, начиная от рутинного таргетного скрининга наиболее распространенных патогенных вариантов и до тщательного изучения кодирующей и прилегающих интронных областей или всей последовательности гена с помощью секвенирования и/или различных NGS-технологий. В этой связи предполагается, что существенное число M1-пациентов, сообщаемое во многих исследованиях, может отражать потенциальное наличие еще не обнаруженных патогенных вариантов или же различных вариаций числа копий (CNVs, Copy Number Variations) в последовательности гена *SLC26A4*.

Известно, что CNVs (делеции/дупликации от 50–100 п. н. до нескольких млн п. н.) становятся причинами возникновения многих генетических заболеваний, включая наследственную потерю слуха (Zhang et al., 2009; Stankiewicz, Lupski, 2010; Shearer et al., 2014; Rentas, Abou Tayoun, 2021; Royer-Bertrand et al., 2021).

Среди различных методов и подходов, используемых в последние годы для обнаружения делеций/дупликаций, одним из перспективных является метод мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) (Schouten et al., 2002; Stuppia et al., 2012). В основе метода лежит гибридизация двух частей зонда с целевой последовательностью ДНК и их лигирование с дальнейшей амплификацией с использованием универсальных флуоресцентно меченных праймеров. Каждый амплифицированный продукт имеет уникальную длину, что позволяет дифференцировать множественные фрагменты с помощью капиллярного электрофореза. Уровень сигнала каждого ПЦР-продукта определяется количеством копий анализируемого фрагмента ДНК и, таким образом, сопоставление полученных сигналов с сигналами от эталонных последовательностей позволяет детектировать нарушения копийности в том или ином регионе генома.

К настоящему времени в гене *SLC26A4* с помощью различных молекулярно-генетических методов, включая MLPA, обнаружено несколько крупных делеций, затрагивающих от одного до нескольких экзонов (Park et al., 2003; Hu H. et al., 2007; Pera et al., 2008; Anwar et al., 2009; Pique et al., 2014; Pang et al., 2015; Cirello et al., 2018; Lin et al., 2019; Tian et al., 2024). И хотя в большинстве исследований показано, что доля CNVs в *SLC26A4*-обусловленной потере слуха невысока и не превышает нескольких процентов, поиск CNVs рекомендуется как один из этапов диагностики у пациентов с неустановленным диагнозом, особенно в когортах пациентов, у которых найден только один *SLC26A4*-патогенный вариант (M1-пациенты).

В ходе изучения этиологии наследственной потери слуха у коренного населения Республики Тыва (Южная Сибирь) у существенной части тувинских пациентов (62/220, 28.2 %) были обнаружены биаллельные патогенные варианты гена *SLC26A4* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии (M2-пациенты), что позволило установить молекулярно-генетический диагноз «рецессивно наследуемая потеря слуха, обусловленная патогенными вариантами гена *SLC26A4*». Наряду с этим, у 13 пациентов был выявлен только один патогенный *SLC26A4*-вариант (M1-пациенты) (Danilchenko et al., 2021). Цель данной работы – поиск делеций/дупликаций в гене *SLC26A4* с применением метода MLPA в группе M1-пациентов, имеющих только один патогенный вариант этого гена.

Материалы и методы

Анализируемые выборки

MLPA-анализ был выполнен у 13 тувинских пациентов, у которых после проведения первичного анализа (Danilchenko et al., 2021) был выявлен только один рецессивный патогенный вариант гена *SLC26A4* (M1-пациенты). Скрининг варианта c.1185_1196dup, обнаруженного впервые, проводился в контрольной выборке здоровых индивидов без нарушений слуха, стратифицированной по этнической принадлежности (тувинцы) ($n = 129$).

Экспериментальные методы

Мультиплексная амплификация лигированных зондов (MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Для поиска делеций/дупликаций в гене *SLC26A4* применялся метод MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) с использованием набора SALSA MLPA Probemix P280-B4 *SLC26A4* (MRC-Holland, Нидерланды), содержащего 24 зонда: 21 зонд для каждого экзона гена *SLC26A4* и 3 зонда для точковых мутаций: c.707T>C, IVS8+1G>A (c.1001+1G>A) и c.1246A>C. MLPA-анализ проводили согласно протоколу производителя. Полученные MLPA-продукты разделяли капиллярным электрофорезом на генном анализаторе 3130XL (Applied Biosystems, США). Анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения Coffalyser.Net (<https://www.mrcholland.com/>).

Молекулярное клонирование. Для молекулярного клонирования в качестве матрицы были использованы образцы ДНК пациентов с новым вариантом c.1185_1196dup (экзон 10) гена *SLC26A4*. Амплификацию фрагментов ДНК, содержащих экзон 10, проводили с использованием специфичных праймеров 5'-ACCTCTAGAAGATGGTATGGCGT-3' и 5'-GCTAGGATCCGTGCGAGCCTTCCT-3', включающих на 5'-концах сайты узнавания эндонуклеаз рестрикции *XbaI* и *BamHI* соответственно. ПЦР-продукты и плазмидный вектор pUC18 обрабатывали эндонуклеазами рестрикции *XbaI* и *BamHI* (New England Biolabs, США) с последующей очисткой ПЦР-продуктов на магнитных частицах Agencourt Ampure XP (Beckman Coulter, США) и выделением вектора pUC18 из 1 % агарозного геля с использованием набора QIAEX II Gel Extraction Kit

(Qiagen, Нидерланды). Полученный ПЦР-продукт клонировали в подготовленный вектор pUC18 с использованием Т4 ДНК лигазы (СибЭнзим, Россия). Лигазную смесь очищали на колонках Cleanup S-Cap (Евроген, Россия), а затем использовали для трансформации *E. coli* XL1-blue методом электропорации. Для отбора рекомбинантных клонов, несущих целевой фрагмент ДНК, через 14–16 ч после трансформации проводили ПЦР-скрининг колоний с использованием праймеров 5'-GTGGAATTGTGAGCGGATAAC-3' и 5'-TCCCAGTCACGACGTTGTAAG-3'. Нуклеотидную последовательность вставки подтверждали секвенированием по методу Сэнгера.

Секвенирование по методу Сэнгера. Для амплификации и последующего секвенирования экзона 10 гена *SLC26A4* в образцах ДНК пациентов использовали праймеры 5'-GAGCAGATATAGCATTTGATGATGAGATG-3' и 5'-CTCGGTGCGAGCCTTCCT-3'. ПЦР-продукты очищали на магнитных частицах Agencourt Ampure XP с последующим проведением реакции секвенирования с использованием набора BigDye Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Продукты реакции Сэнгера очищали гель-фильтрацией на колонках с Sephadex G-50 medium (GE Healthcare, США) и анализировали на генетическом анализаторе ABI 3130XL (Applied Biosystems, США).

Скрининг нового варианта с.1185_1196dup в контрольной выборке. Амплификацию фрагмента экзона 10 гена *SLC26A4* в образцах ДНК индивидуумов из контрольной выборки проводили с использованием праймеров 5'-GACCTCTCTCAGATGGTATGGCGT-3' и 5'-CTCGGTGCGAGCCTTCCT-3'. ПЦР-продукты разделяли в 4 % агарозном геле (wt/wt – 395 п. н., с.1185_1196dup/wt – 395 и 407 п. н.).

Работы по генной инженерии проводили на базе Сектора клеточных технологий Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Секвенирование по методу Сэнгера и анализ продуктов MLPA-анализа осуществляли в ЦКП «Геномика» (Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре СО РАН, Новосибирск).

Биоинформатический анализ

Биоинформатический анализ функционального эффекта нового варианта с.1185_1196dup на структуру и функцию белка пендрин проводили с помощью предсказательных программ: Mutation Taster2021 (<https://www.genecascade.org/MutationTaster2021/>) (Steinhaus et al., 2021), PROVEAN (<http://provean.jcvi.org>) (Choi Y. et al., 2012, 2015), SIFT (https://siftdata.org/www/SIFT_indels2.html) (Hu J. et al., 2013), VEST-Indel / CRAVAT (<https://cravat.us/CRAVAT/>) (Douville et al., 2015), MutPred-Indel (<https://mutpred2.mutdb.org/mutpredindel/>) (Pagel et al., 2019). Моделирование вторичной структуры белка пендрин проведено на биоинформатической платформе I-TASSER (<https://aideepmed.com/I-TASSER/>) (Zheng et al., 2021, 2026; Zhou et al., 2022). Визуализация структуры белка пендрин выполнена с помощью программы DeepView / Swiss-PdbViewer v4.1.0 (<http://www.expasy.org/spdbv/>) (Guex, Peitsch, 1997).

Результаты

Анализ гена *SLC26A4* методом MLPA выполнен у 13 туvinских пациентов, у которых был найден только один рецессивный патогенный вариант этого гена (М1-пациенты). Метод MLPA позволяет обнаруживать изменения числа копий (делеции и дупликации) в определенных регионах генома. У трех М1-пациентов было обнаружено сходное изменение копийности участка в районе экзона 10: соотношение с зондом 09251-L09442 из набора SALSA MLPA Probemix P280-B4 *SLC26A4* составило ~ 0.5 (рис. 1, а). В дальнейшем, для детального изучения образцов ДНК этих пациентов, было проведено молекулярное клонирование фрагментов экзона 10 в плазмидный вектор pUC18 с последующим секвенированием по методу Сэнгера. Анализ нуклеотидной последовательности клонированных фрагментов выявил дупликацию 12 нуклеотидов AGGATTCTTCTC (с.1185_1196dup) на одном из аллелей (см. рис. 1, б).

Наблюдаемое при MLPA-анализе изменение копийности в образцах с вариантом с.1185_1196dup по отношению к зонду 09251-L09442 отображается как гетерозиготная делеция (~0.5) (см. рис. 1, а). В состав зонда 09251-L09442 (184 п. н.) входят два олигонуклеотида 5'-TCTCAGGATTCT-3' и 5'-TCTCTTGTGTTT-3', непосредственно гибридизующихся с целевой последовательностью в гене *SLC26A4*, 5'- и 3'-концы которых находятся рядом друг с другом (TCTCAGGATTCT-TCTCTTGTGTTT), что необходимо для их последующего лигирования (см. рис. 1, в). Оказалось, что последовательность AGGATTCTTCTC, дублированная при варианте с.1185_1196dup, входит в состав зонда 09251-L09442 (см. рис. 1, в). При гетерозиготном состоянии варианта с.1185_1196dup сигнал от зонда детектируется только с аллеля дикого типа (wt), это связано с тем, что дупликация с.1185_1196dup приводит к увеличению расстояния между двумя частями зонда, что делает их дальнейшее лигирование и амплификацию невозможными. Отсутствие сигнала зонда с мутантного аллеля (с.1185_1196dup) отражается в снижении количества копий целевой последовательности до уровня 0.5, маскирующим фактическое наличие дупликации (см. рис. 1, а). Известно, что одним из ограничений применения метода MLPA являются ситуации, когда какие-либо вариации в различных областях исследуемых генов локализованы непосредственно в последовательности зонда. Это препятствует гибридизации зондов и/или их дальнейшему лигированию, что приводит к ложноположительному изменению флуоресцентного сигнала и, соответственно, к некорректной интерпретации полученных результатов. В таких случаях рекомендуется продолжить исследования с использованием других методов (Schouten et al., 2002; Stuppia et al., 2012; Varga et al., 2012). В нашей работе при проведении MLPA-анализа обнаружено три образца ДНК с нарушением копийности (~0.5) в области экзона 10 гена *SLC26A4*. Последующий детальный анализ с применением молекулярного клонирования и секвенирования позволил идентифицировать это нарушение как гетерозиготную дупликацию 12 нуклеотидов (с.1185_1196dup). Оказалось, что обнаруженный



Проведенный скрининг с.1185_1196dup не выявил этот вариант в контрольной выборке тувинцев без нарушений слуха ($n = 129$) (данные не представлены).

Биоинформатическая оценка функционального эффекта нового варианта с.1185_1196dup гена *SLC26A4*

Предсказательные программы	Оценка потенциального эффекта (пороговое значение)	Литературный источник
Mutation Taster21 (https://www.genecascade.org/MutationTaster2021/)	Нейтральный / Benign	Steinhaus et al., 2021
PROVEAN (http://provean.jcvi.org)	Патогенный / Deleterious –10.34 (< –2.5)	Choi Y. et al., 2012, 2015
SIFT (https://siftb.org/www/SIFT_indels2.html)	Повреждающий / Damaging 0.826 (> 0)	Hu J. et al., 2013
VEST-indel (https://cravat.us/CRAVAT/)	Патогенный / Pathogenic 0.99 (pathogenic ≥ 0.5, benign < 0.5)	Douville et al., 2015
MutPred-Indel (https://mutpred2.mutdb.org/mutpredindel/)	Патогенный / Pathogenic 0.81601 (pathogenic ≥ 0.5, benign < 0.5)	Pagel et al., 2019

Для оценки потенциального функционального эффекта варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) на структуру и функцию белка пендрин использовали несколько биоинформатических предсказательных программ (см. таблицу). Их выбор обусловлен наличием алгоритмов, позволяющих оценивать последствия инделов (indels, инсерции/делеции), поскольку существующие инструменты прогнозирования в основном сосредоточены на изучении эффектов однонуклеотидных вариантов (SNVs, single-nucleotide variants). Большая часть из использованных нами программ предсказала повреждающий эффект варианта с.1185_1196dup на структуру и функции белка пендрин (см. таблицу).

Обсуждение

В результате MLPA-анализа у трех М1-пациентов из двух родственных тувинских семей найден новый вариант NM_000441.2: с.1185_1196dup – тандемная дупликация 12 нуклеотидов в экзоне 10 гена *SLC26A4*. Этот вариант можно отнести к классу инсерций, не вызывающих сдвиг рамки считывания (in-frame insertions), которая приводит к включению четырех дополнительных аминокислотных остатков Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) в трансмембранном домене 9 (TM9) белка пендрин (см. рис. 1 и 2). Вариант с.1185_1196dup не обнаружен в контрольной выборке тувинцев (n = 129), а также не зарегистрирован ни в одной из мировых баз геномных данных (dbSNP, gnomAD, ClinVar).

В настоящее время общее количество всех известных вариаций в последовательности гена *SLC26A4* (21 экзон), занимающей около 57 т.п.о. геномной ДНК (GRCh38, NC_000007.14, 7:107,660,828-107,717,809), превышает 37000 (the Deafness Variation Database: <https://deafnessvariationdatabase.org/genes/SLC26A4>, май 2026 г.). Только около 6–7 % (~2500 вариантов) из них классифицировано, согласно современным рекомендациям (Richards et al., 2015), как «патогенный» / «вероятно патогенный» / «нейтральный» / «вероятно нейтральный», а статус остальных вариантов пока не определен. К категориям «патогенный» и «вероятно патогенный» отнесено более 800 вариантов, ассоциированных с широким фенотипическим спектром

проявлений нарушений слуховой функции. Значительную долю (~25 %) патогенных вариантов в кодирующих областях гена составляют небольшие (от одного до нескольких нуклеотидов) инсерции или делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания (frameshift variants), образованию нового стоп-кодона и преждевременной терминации синтеза белка. Гораздо более редкими, обнаруженными только у единичных пациентов с потерей слуха, являются внутрирамочные инделы (in-frame insertions/deletions), не вызывающие сдвиг рамки считывания и приводящие к изменению длины белка пендрин (the Deafness Variation Database: <https://deafnessvariationdatabase.org/genes/SLC26A4>, май 2026 г.).

Белок пендрин, кодируемый геном *SLC26A4*, относится к большому семейству SLC26 (SLC26A1-11), опосредующих транспорт различных анионов. Точная молекулярная структура пендрина человека в настоящее время еще не определена, но изучена для белка пендрин и ряда других членов семейства SLC26 у некоторых млекопитающих, имеющих значительное сходство с пендрином человека (Walter et al., 2019; Liu et al., 2023; Takahashi, Homma, 2024; Wang et al., 2024). По современным представлениям, основанным на данных криоэлектронной микроскопии (cryo-EM) белка пендрин млекопитающих (*Mus musculus*, *Sus scrofa*) (Liu et al., 2023; Takahashi, Homma, 2024; Wang et al., 2024), пендрин человека является гомодимером, каждый протомер которого содержит 14 трансмембранных сегментов, представляющих собой α-спирали (TM1–TM14), за которыми следует С-концевой цитоплазматический домен, содержащий STAS-домен (the Sulfate Transporter and Anti-Sigma factor antagonist domain), функция которого пока не ясна полностью. Трансмембранная часть пендрина (TM1–TM14) принимает складчатую инвертированную структуру, образованную сегментами TM1–TM7 и TM8–TM14. Сегменты TM1–TM4 и TM8–TM11 формируют основной транспортный домен (core domain), который содержит два сайта связывания анионов и непосредственно отвечает за перенос субстратов. Сегменты TM5–TM7 и TM12–TM14 образуют меньший по размеру скаффолд-домен (scaffold domain, или gate domain), выполняющий структурную роль, поддерживая

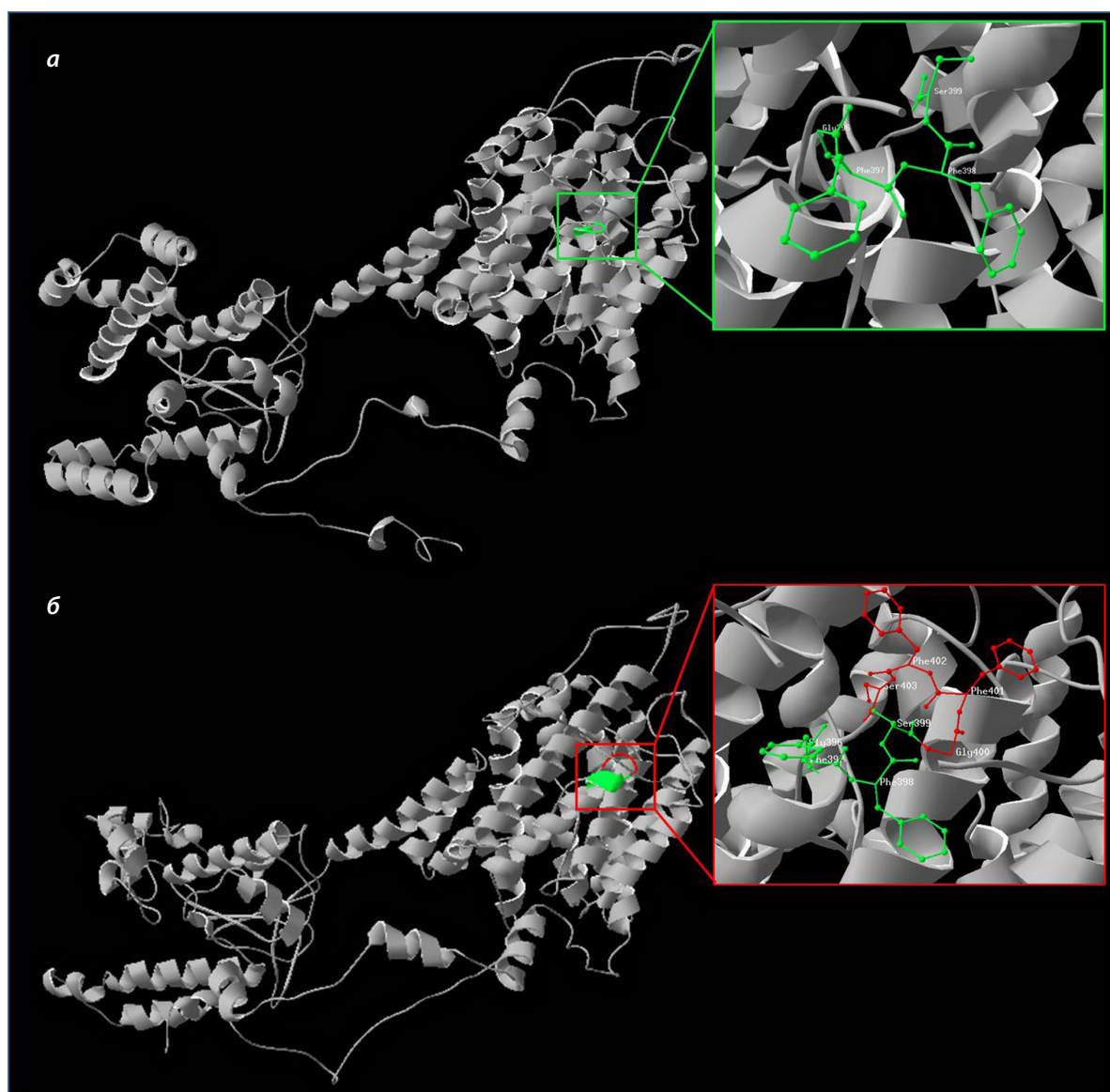


Рис. 2. Схематичное представление вторичной структуры белка пендрина и фрагментов его аминокислотной последовательности.

а – нормальная последовательность 396Gly-397Phe-398Phe-399Ser (показана зеленым цветом); *б* – дублированная последовательность Gly396_Ser399dup (показана красным цветом).

и координируя работу транспортного домена (см. детали в работах (Liu et al., 2023; Wang et al., 2024).

Инсерция четырех аминокислотных остатков в результате нового варианта c.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) происходит в трансмембранном сегменте TM9, занимающем центральное положение (аминокислотные позиции 385–405) в последовательности белка пендрина (780 аминокислотных остатков). TM9, а также следующие за ним трансмембранные сегменты, являются высококонсервативными районами белка (рис. 3), о консервативности которых свидетельствует также значительное число обнаруженных в этих районах патогенных или вероятно патогенных *SLC26A4*-вариантов, приводящих к замене аминокислотных остатков (the Deafness Variation Database:

<https://deafnessvariationdatabase.org/genes/SLC26A4>, май 2026 г.).

Таким образом, «сдвиг» аминокислотной последовательности в случае варианта p.(Gly396_Ser399dup), возникающий в трансмембранном сегменте TM9 и приводящий к увеличению длины белка пендрина с 780 до 784 аминокислотных остатков, вероятно, может изменять вторичную структуру белка, что влечет за собой нарушение или полную утрату функции транспорта анионов.

В отличие от инделов со сдвигом рамки считывания (frameshift indels), в результате которых обычно происходит преждевременное завершение трансляции и потеря функции белка, внутрирамочные инделы (in-frame indels) приводят к изменению длины белка, оставляя при этом

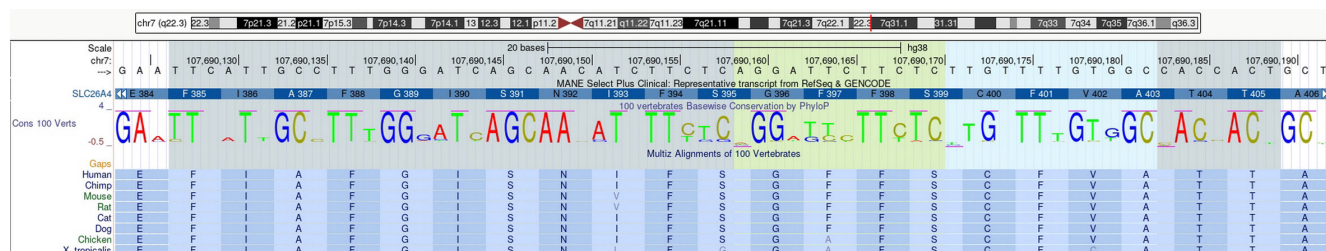


Рис. 3. Множественное выравнивание последовательности белка пендлин, выполненное в геномном браузере UCSC (<https://genome.ucsc.edu/>).

Последовательность TM9 (аминокислотные позиции 385–405, согласно UniProt: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/O43511/entry>) показана серым цветом. Нуклеотидная и аминокислотная последовательности «дикого типа» выделены зеленым цветом, место вставки дублированной последовательности в случае варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) – голубым цветом.

нижележащую аминокислотную последовательность незатронутой. Чем больше размер таких инделов и чем более эволюционно консервативны аминокислотные остатки в районе индела, тем более существенным может быть его негативный эффект на структуру и функции белка. Эффекты внутрирамочных инделов часто трудно предсказать, поскольку существующие биоинформатические прогностические инструменты, в основном, разработаны для оценки миссенс-вариантов, приводящих к замене аминокислотных остатков, хотя алгоритмы прогнозирования эффектов внутрирамочных инделов постоянно совершенствуются (Pagel et al., 2019; Cannon et al., 2023; Abderrazzaq et al., 2026). Согласно разработанным рекомендациям (Richards et al., 2015) для внутрирамочных инделов, приводящих к синтезу белка измененной длины, с учетом того, что инделы находятся в неповторяющихся консервативных районах белка, может быть применен умеренный критерий патогенности (PM4, pathogenicity moderate). Большая часть предсказательных программ, использованных при оценке нового варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)), прогнозирует его повреждающее воздействие на структуру и функцию белка пендлин (см. таблицу). В пользу патогенности этого варианта свидетельствует также его сегрегация с потерей слуха у трех тувинских пациентов, у которых он был найден в компаунд-гетерозиготном состоянии с другими известными патогенными вариантами гена *SLC26A4* (см. рис. 1, д), а также его отсутствие в мировых базах геномных данных (dbSNP, gnomAD, ClinVar). Ограничением настоящей работы является отсутствие функциональных *in vitro* исследований для выяснения механизма потенциальных негативных эффектов варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) на структуру и функции белка пендлин. В дальнейшем мы планируем провести такие исследования на основе экспериментальных платформ, созданных с учетом трансмембранной локализации белка пендлин и его функционирования в качестве анионного транспортера.

Заключение

Постановка точного диагноза у пациентов с одним выявленным патогенным рецессивным аллелем гена *SLC26A4* (M1-пациенты) связана с определенными трудностями.

Стандартные методы молекулярно-генетической диагностики не всегда позволяют обнаружить все вариации в последовательности этого гена. Применение метода MLPA для повторного анализа гена *SLC26A4* у 13 M1-пациентов позволило выявить у трех из них не описанный ранее вариант с.1185_1196dup, представляющий собой внутрирамочную инсерцию 12 нуклеотидов, приводящую к включению четырех дополнительных аминокислотных остатков Gly-Phe-Phe-Ser (p.(Gly396_Ser399dup)) в высококонсервативном районе белка пендлин. Совокупность полученных данных о новом варианте с.1185_1196dup, включая его сегрегацию с потерей слуха, согласованные прогностические оценки, полученные с помощью различных биоинформатических инструментов, и отсутствие в мировых базах данных, свидетельствует в пользу его вероятной патогенности. Тем не менее для подтверждения потенциально негативного эффекта нового варианта с.1185_1196dup (p.(Gly396_Ser399dup)) необходимы функциональные *in vitro* исследования.

Список литературы / References

- Abderrazzaq H., Singh M., Babb L., Bergquist T., Brenner S.E., Pejaver V., O'Donnell-Luria A., Radivojac P., ClinGen Computational Working Group and ClinGen Variant Classification Working Group. Calibration of in-frame indel variant effect predictors for clinical variant classification. *bioRxiv* [Preprint]. 2026. doi 10.64898/2026.04.15.718599
- Albert S., Blons H., Jonard L., Feldmann D., Chauvin P., Loundon N., Sergeant-Allaoui A., ... Petit C., Garabédian E.N., Couderc R., Marlin S., Denoyelle F. *SLC26A4* gene is frequently involved in non-syndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations. *Eur J Hum Genet.* 2006;14(6):773-779. doi 10.1038/sj.ejhg.5201611
- Anwar S., Riazuddin S., Ahmed Z.M., Tasneem S., Ateeq-ul-Jaleel, Khan S.Y., Griffith A.J., Friedman T.B., Riazuddin S. *SLC26A4* mutation spectrum associated with DFNB4 deafness and Pendred's syndrome in Pakistanis. *J Hum Genet.* 2009;54(5):266-270. doi 10.1038/jhg.2009.21
- Azaiez H., Yang T., Prasad S., Sorensen J.L., Nishimura C.J., Kimberling W.J., Smith R.J. Genotype-phenotype correlations for *SLC26A4*-related deafness. *Hum Genet.* 2007;122(5):451-457. doi 10.1007/s00439-007-0415-2
- Cannon S., Williams M., Gunning A.C., Wright C.F. Evaluation of *in silico* pathogenicity prediction tools for the classification of small in-frame indels. *BMC Med Genomics.* 2023;16(1):36. doi 10.1186/s12920-023-01454-6

- Chao J.R., Chattaraj P., Munjal T., Honda K., King K.A., Zalewski C.K., Chien W.W., Brewer C.C., Griffith A.J. *SLC26A4*-linked CEVA haplotype correlates with phenotype in patients with enlargement of the vestibular aqueduct. *BMC Med Genet.* 2019;20(1):118. doi 10.1186/s12881-019-0853-4
- Chattaraj P., Reimold F.R., Muskett J.A., Shmukler B.E., Chien W.W., Madeo A.C., Pryor S.P., Zalewski C.K., Butman J.A., Brewer C.C., Kenna M.A., Alper S.L., Griffith A.J. Use of *SLC26A4* mutation testing for unilateral enlargement of the vestibular aqueduct. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013;139(9):907-913. doi 10.1001/jamaoto.2013.4185
- Chattaraj P., Munjal T., Honda K., Rendtorff N.D., Ratay J.S., Muskett J.A., Rizzo D.S., Roux I., Gertz E.M., Schäffer A.A., Friedman T.B., Morell R.J., Tranebjærg L., Griffith A.J. A common *SLC26A4*-linked haplotype underlying non-syndromic hearing loss with enlargement of the vestibular aqueduct. *J Med Genet.* 2017; 54(10):665-673. doi 10.1136/jmedgenet-2017-104721
- Choi B.Y., Madeo A.C., King K.A., Zalewski C.K., Pryor S.P., Muskett J.A., Nance W.E., Butman J.A., Brewer C.C., Griffith A.J. Segregation of enlarged vestibular aqueducts in families with non-diagnostic *SLC26A4* genotypes. *J Med Genet.* 2009;46(12):856-861. doi 10.1136/jmg.2009.067892
- Choi Y., Sims G.E., Murphy S., Miller J.R., Chan A.P. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS One.* 2012;7(10):e46688. doi 10.1371/journal.pone.0046688
- Choi Y., Chan A.P. PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels. *Bioinformatics.* 2015;31(16):2745-2747. doi 10.1093/bioinformatics/btv195
- Cirello V., Giorgini V., Castronovo C., Marelli S., Mainini E., Sironi A., Recalcati M.P., Pessina M., Giardino D., Larizza L., Persani L., Finelli P., Russo S., Fugazzola L. Segmental maternal UPD of chromosome 7q in a patient with Pendred and Silver Russell syndromes-like features. *Front Genet.* 2018;9:600. doi 10.3389/fgene.2018.00600
- Danilchenko V.Y., Zytsar M.V., Maslova E.A., Bady-Khoo M.S., Barashkov N.A., Morozov I.V., Bondar A.A., Posukh O.L. Different rates of the *SLC26A4*-related hearing loss in two indigenous peoples of Southern Siberia (Russia). *Diagnostics (Basel).* 2021;11(12): 2378. doi 10.3390/diagnostics11122378
- Del Castillo F.J., Del Castillo I. DFNB1 non-syndromic hearing impairment: Diversity of mutations and associated phenotypes. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:428. doi 10.3389/fnmol.2017.00428
- Douville C., Masica D.L., Stenson P.D., Cooper D.N., Gygax D.M., Kim R., Ryan M., Karchin R. Assessing the pathogenicity of insertion and deletion variants with the variant effect scoring tool (VEST-indel). *Hum Mutat.* 2015;37(1):28-35. doi 10.1002/humu.22911
- Du W., Guo Y., Wang C., Wang Y., Liu X. A systematic review and meta-analysis of common mutations of *SLC26A4* gene in Asian populations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2013;77(10):1670-1676. doi 10.1016/j.ijporl.2013.07.023
- Everett L.A., Glaser B., Beck J.C., Idol J.R., Buchs A., Heyman M., Adawi F., Hazani E., Nassir E., Baxevanis A.D., Sheffield V.C., Green E.D. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997;17(4):411-422. doi 10.1038/ng1297-411
- Griffith A.J., Wangemann P. Hearing loss associated with enlargement of the vestibular aqueduct: mechanistic insights from clinical phenotypes, genotypes, and mouse models. *Hear Res.* 2011;281(1-2): 11-17. doi 10.1016/j.heares.2011.05.009
- Guex N., Peitsch M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis.* 1997;18(15):2714-2723. doi 10.1002/elps.1150181505
- Honda K., Griffith A.J. Genetic architecture and phenotypic landscape of *SLC26A4*-related hearing loss. *Hum Genet.* 2022;141(3-4):455-464. doi 10.1007/s00439-021-02311-1
- Hu H., Wu L., Feng Y., Pan Q., Long Z., Li J., Dai H., Xia K., Liang D., Niikawa N., Xia J. Molecular analysis of hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct in the mainland Chinese: a unique *SLC26A4* mutation spectrum. *J Hum Genet.* 2007;52(6):492-497. doi 10.1007/s10038-007-0139-0
- Hu J., Ng P.C. SIFT Indel: predictions for the functional effects of amino acid insertions/deletions in proteins. *PLoS One.* 2013;8(10): e77940. doi 10.1371/journal.pone.0077940
- Koohiyan M. A systematic review of *SLC26A4* mutations causing hearing loss in the Iranian population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2019;125:1-5. doi 10.1016/j.ijporl.2019.06.012
- Lee Y.H., Tsai C.Y., Lu Y.S., Lin P.H., Chiang Y.T., Yang T.H., Hsu J.S., Hsu C.J., Chen P.L., Liu T.C., Wu C.C. Revisiting genetic epidemiology with a refined targeted gene panel for hereditary hearing impairment in the Taiwanese population. *Genes (Basel).* 2023;14(4):880. doi 10.3390/genes14040880
- Lin Y.H., Wu C.C., Lin Y.H., Lu Y.C., Chen C.S., Liu T.C., Chen P.L., Hsu C.J. Targeted next-generation sequencing facilitates genetic diagnosis and provides novel pathogenetic insights into deafness with enlarged vestibular aqueduct. *J Mol Diagn.* 2019;21(1):138-148. doi 10.1016/j.jmoldx.2018.08.007
- Liu Q., Zhang X., Huang H., Chen Y., Wang F., Hao A., Zhan W., ... Li G.L., Zhang W., Shu Y., Sun L., Chen Z. Asymmetric pendrin homodimer reveals its molecular mechanism as anion exchanger. *Nat Commun.* 2023;14(1):3012. doi 10.1038/s41467-023-38303-0
- Mey K., Muhamad A.A., Tranebjærg L., Rendtorff N.D., Rasmussen S.H., Bille M., Cayé-Thomasen P. Association of *SLC26A4* mutations, morphology, and hearing in pendred syndrome and NSEVA. *Laryngoscope.* 2019;129(11):2574-2579. doi 10.1002/lary.27319
- Mount D.B., Romero M.F. The SLC26 gene family of multifunctional anion exchangers. *Pflugers Arch.* 2004;447(5):710-721. doi 10.1007/s00424-003-1090-3
- Page K.A., Antaki D., Lian A., Mort M., Cooper D.N., Sebat J., Iakoucheva L.M., Mooney S.D., Radivojac P. Pathogenicity and functional impact of non-frameshifting insertion/deletion variation in the human genome. *PLoS Comput Biol.* 2019;15(6):e1007112. doi 10.1371/journal.pcbi.1007112
- Pang X., Chai Y., He L., Chen P., Wang X., Li L., Jia H., Wu H., Yang T. A 7666-bp genomic deletion is frequent in Chinese Han deaf patients with non-syndromic enlarged vestibular aqueduct but without bi-allelic *SLC26A4* mutations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015; 79(12):2248-2252. doi 10.1016/j.ijporl.2015.10.015
- Park H.J., Shaukat S., Liu X.Z., Hahn S.H., Naz S., Ghosh M., Kim H.N., ... Usami S.I., Nance W.E., Wilcox E.R., Riazuddin S., Griffith A.J. Origins and frequencies of *SLC26A4* (PDS) mutations in east and south Asians: global implications for the epidemiology of deafness. *J Med Genet.* 2003;40(4):242-248. doi 10.1136/jmg.40.4.242
- Pera A., Villamar M., Viñuela A., Gandía M., Medà C., Moreno F., Hernández-Chico C. A mutational analysis of the *SLC26A4* gene in Spanish hearing-impaired families provides new insights into the genetic causes of Pendred syndrome and DFNB4 hearing loss. *Eur J Hum Genet.* 2008;16(8):888-896. doi 10.1038/ejhg.2008.30
- Pique L.M., Brennan M.L., Davidson C.J., Schaefer F., Greinwald J. Jr., Schrijver I. Mutation analysis of the *SLC26A4*, *FOXI1* and *KCNJ10* genes in individuals with congenital hearing loss. *PeerJ.* 2014;2: e384. doi 10.7717/peerj.384
- Rentas S., Abou Tayoun A. Utility of droplet digital PCR and NGS-based CNV clinical assays in hearing loss diagnostics: current status and future prospects. *Expert Rev Mol Diagn.* 2021;21(2):213-221. doi 10.1080/14737159.2021.1887731
- Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spector E., Voelkerding K., Rehm H.L.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-424. doi 10.1038/gim.2015.30
- Roesch S., Rasp G., Sarikas A., Dossena S. Genetic determinants of non-syndromic enlarged vestibular aqueduct: A review. *Audiol Res.* 2021;11(3):423-442. doi 10.3390/audiolres11030040

- Rose J., Muskett J.A., King K.A., Zalewski C.K., Chattaraj P., Butman J.A., Kenna M.A., Chien W.W., Brewer C.C., Griffith A.J. Hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct and zero or one mutant allele of *SLC26A4*. *Laryngoscope*. 2017;127(7):E238-E243. doi 10.1002/lary.26418
- Royer-Bertrand B., Cisarova K., Niel-Buttschi F., Mittaz-Crettol L., Fodstad H., Superti-Furga A. CNV detection from exome sequencing data in routine diagnostics of rare genetic disorders: opportunities and limitations. *Genes (Basel)*. 2021;12(9):1427. doi 10.3390/genes12091427
- Schouten J.P., McElgunn C.J., Waaijer R., Zwiijnenburg D., Diepvens F., Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(12):e57. doi 10.1093/nar/gnf056
- Shearer A.E., Kolbe D.L., Azaiez H., Sloan C.M., Frees K.L., Weaver A.E., Clark E.T., Nishimura C.J., Black-Ziegelbein E.A., Smith R.J. Copy number variants are a common cause of non-syndromic hearing loss. *Genome Med.* 2014;6(5):37. doi 10.1186/gm554
- Smits J.J., de Bruijn S.E., Lanting C.P., Oostrik J., O'Gorman L., Mantere T.; DOOFNL Consortium; ... Hoischen A., Pegge S.A.H., Neveling K., Pennings R.J.E., Kremer H. Exploring the missing heritability in subjects with hearing loss, enlarged vestibular aqueducts, and a single or no pathogenic *SLC26A4* variant. *Hum Genet.* 2022; 141(3-4):465-484. doi 10.1007/s00439-021-02336-6
- Stankiewicz P., Lupski J.R. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med.* 2010;61:437-455. doi 10.1146/annurev-med-100708-204735
- Steinhaus R., Proft S., Schuelke M., Cooper D.N., Schwarz J.M., Seelow D. MutationTaster2021. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(W1): W446-W451. doi 10.1093/nar/gkab266
- Stuppia L., Antonucci I., Palka G., Gatta V. Use of the MLPA assay in the molecular diagnosis of gene copy number alterations in human genetic diseases. *Int J Mol Sci.* 2012;13(3):3245-3276. doi 10.3390/ijms13033245
- Takahashi S., Homma K. The molecular principles underlying diverse functions of the SLC26 family of proteins. *J Biol Chem.* 2024; 300(5):107261. doi 10.1016/j.jbc.2024.107261
- Tesolin P., Fiorino S., Lenarduzzi S., Rubinato E., Cattaruzzi E., Ammar L., Castro V., Orzan E., Granata C., Dell'Orco D., Morgan A., Giroto G. Pendred syndrome, or not Pendred syndrome? That is the question. *Genes (Basel)*. 2021;12(10):1569. doi 10.3390/genes12101569
- Tian Y., Liu M., Lu Y., Zhao X., Yan Z., Sun Y., Ma J., Tang W., Wang H., Xu H. Exonic deletions and deep intronic variants of the *SLC26A4* gene contribute to the genetic diagnosis of unsolved patients with enlarged vestibular aqueduct. *Hum Mutat.* 2024;2024:8444122. doi 10.1155/2024/8444122
- Tsukada K., Nishio S.Y., Hattori M., Usami S. Ethnic-specific spectrum of *GJB2* and *SLC26A4* mutations: their origin and a literature review. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2015;124(Suppl. 1):61S-76S. doi 10.1177/0003489415575060
- Varga R.E., Mumtaz R., Jahic A., Rudenskaya G.E., Sánchez-Ferreiro E., Auer-Grumbach M., Hübner C.A., Beetz C. MLPA-based evidence for sequence gain: pitfalls in confirmation and necessity for exclusion of false positives. *Anal Biochem.* 2012;421(2):799-801. doi 10.1016/j.ab.2011.12.002
- Walter J.D., Sawicka M., Dutzler R. Cryo-EM structures and functional characterization of murine *Slc26a9* reveal mechanism of uncoupled chloride transport. *eLife*. 2019;8:e46986. doi 10.7554/eLife.46986
- Wang L., Hoang A., Gil-Iturbe E., Laganowsky A., Quick M., Zhou M. Mechanism of anion exchange and small-molecule inhibition of pendrin. *Nat Commun.* 2024;15(1):346. doi 10.1038/s41467-023-44612-1
- Wangemann P., Nakaya K., Wu T., Maganti R.J., Itza E.M., San-neman J.D., Harbidge D.G., Billings S., Marcus D.C. Loss of cochlear HCO₃⁻ secretion causes deafness via endolymphatic acidification and inhibition of Ca²⁺ reabsorption in a Pendred syndrome mouse model. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292(5):F1345-F1353. doi 10.1152/ajprenal.00487.2006
- Yang T., Vidarsson H., Rodrigo-Blomqvist S., Rosengren S.S., Enerback S., Smith R.J. Transcriptional control of *SLC26A4* is involved in Pendred syndrome and nonsyndromic enlargement of vestibular aqueduct (*DFNB4*). *Am J Hum Genet.* 2007;80(6):1055-1063. doi 10.1086/518314
- Yang T., Gurrola J.G. II, Wu H., Chiu S.M., Wangemann P., Snyder P.M., Smith R.J. Mutations of *KCNJ10* together with mutations of *SLC26A4* cause digenic nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct syndrome. *Am J Hum Genet.* 2009;84(5):651-657. doi 10.1016/j.ajhg.2009.04.014
- 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;7:79. doi 10.1186/1479-5876-7-79
- Zhang F., Gu W., Hurles M.E., Lupski J.R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2009;10:451-481. doi 10.1146/annurev.genom.9.081307.164217
- Zheng W., Zhang C., Li Y., Pearce R., Bell E.W., Zhang Y. Folding non-homologous proteins by coupling deep-learning contact maps with I-TASSER assembly simulations. *Cell Rep Methods.* 2021;1(3): 100014. doi 10.1016/j.crmeth.2021.100014
- Zheng W., Wuyun Q., Li Y., Liu Q., Zhou X., Peng C., Zhu Y., Freddolino L., Zhang Y. Deep-learning-based single-domain and multidomain protein structure prediction with D-I-TASSER. *Nat Biotechnol.* 2026;44(4):641-653. doi 10.1038/s41587-025-02654-4
- Zhou X., Zheng W., Li Y., Pearce R., Zhang C., Bell E.W., Zhang G., Zhang Y. I-TASSER-MTD: a deep-learning-based platform for multi-domain protein structure and function prediction. *Nat Protoc.* 2022;17(10):2326-2353. doi 10.1038/s41596-022-00728

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 27.05.2026. После доработки 08.07.2026. Принята к публикации 14.07.2026.