

BƯỚC ĐẦU ỨNG DỤNG KỸ THUẬT GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN LIÊN QUAN KHIẾM THÍNH BẨM SINH

Phạm Vũ Hồng Hạnh¹, Nguyễn Thị Trang^{1*}, Đỗ Đức Huy¹, Cao Minh Thành¹, Nguyễn Thị Nhân², Nguyễn Hoàng Sơn³, Hoàng Nam Anh³

TÓM TẮT: Hiện nay, tại Việt Nam hàng năm có khoảng 15000 trẻ bị khiếm thính. Việc chẩn đoán sớm nguyên nhân khiếm thính bẩm sinh có vai trò quan trọng trong việc phát triển ngôn ngữ cũng như trí tuệ của trẻ. **Mục tiêu:** Nghiên cứu nhằm ứng dụng kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới (NGS) xác định đột biến gen thường gặp và đột biến mới liên quan khiếm thính bẩm sinh ở trẻ khiếm thính bẩm sinh tại Việt Nam. **Phương pháp:** 80 trẻ điếc bẩm sinh và 100 trẻ bình thường. Mẫu máu ngoại vi được thu nhận để tách chiết DNA bộ gen. Kỹ thuật NGS được ứng dụng để phát hiện 100 đột biến trên 18 gen: GJB2, GJB3, SLC26A4, MT-RNR1, MT-CO1, MT-TL1, MT-TS1, MT-TH, DSPP, GPR98, DFNA5, TMC1, MYO7A,TECTA, DIABLO, COCH, MYO15A và PRPS1. **Kết quả:** Phát hiện 17 đột biến ở 14 trẻ khiếm thính (tỉ lệ 21.25%), gồm 2 trường hợp đột biến đồng hợp gen GJB2 và 8 trường hợp dị hợp ở gen GJB2, 2 trường hợp đột biến dị hợp ở gen SLC26A4 và 2 trường hợp đột biến đồng hợp ở gen mã hóa 12S rRNA, 1 trường hợp dị hợp gen TMC1, 1 trường hợp dị hợp ở gen MT-TH, 1 trường hợp dị hợp ở gen MT-TL1. **Kết luận:** Yếu tố di truyền là một trong những nguyên nhân quan trọng gây ra khiếm thính bẩm sinh ở Việt Nam. Đột biến trên gen GJB2 và gen mã hóa 12S rRNA là hai nguyên nhân di truyền phổ biến. NGS là kỹ thuật hiện đại phát hiện đột biến chính xác, hữu ích trong việc chẩn đoán đồng thời nhiều đột biến gen liên quan khiếm thính.

Từ khóa: Giải trình tự gen (NGS), khiếm thính di truyền, GJB2, 12S rRNA, SLC26A4.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khiếm thính bẩm sinh là tình trạng bệnh lý mất hoàn toàn khả năng nghe hoặc suy giảm thính lực ở nhiều mức độ khác nhau ngay từ giai đoạn sơ sinh. Theo WHO, trên thế giới có 360 triệu người khiếm thính (5.3% dân số). Tại Việt Nam, năm 2014, Bệnh viện Phụ sản Hà Nội đã khám sàng lọc khiếm thính sơ sinh 38331 trẻ, phát hiện 688 ca bị khiếm thính (1.5%); tỉ lệ này thực tế có thể cao hơn do có nhiều trường hợp trẻ mất dần thính lực trong quá trình trưởng thành. Việt Nam có khoảng 940 nghìn trẻ được sinh ra hằng năm (ASEANstats, 30/09/2015), chỉ với tỉ lệ 1.5%, mỗi năm sẽ có thêm gần 15 nghìn trẻ khiếm thính. Khiếm thính do nguyên nhân di truyền

chiếm > 50% số trường hợp [1], nhưng tại Việt Nam lại chưa có biện pháp phát hiện đột biến gen khiếm thính hiệu quả.

Trong nghiên cứu này, phương pháp giải trình tự gen trực tiếp chạy trên máy giải trình tự thể hệ mới Bioelectron 4000 sử dụng chip bán dẫn semiconductor với các mẫu thiết kế sẵn cho 100 đột biến trên 18 gen (CapitalBio, Mỹ) để tạo ra một phương pháp phát hiện đột biến nhanh chóng, chính xác, tiết kiệm chi phí và sức lao động, thông lượng cao, có thể chẩn đoán đa gen, đa đột biến trong một lần thao tác; đặc biệt là khả năng ứng dụng trong chẩn đoán trước sinh hoặc sơ sinh, từ đó có biện pháp can thiệp hoặc cho trẻ tiếp cận những chương trình giáo dục đặc biệt từ sớm để trẻ khiếm thính phát triển ngôn ngữ, tư duy bình thường.

Mục tiêu: Xác định đột biến gen liên quan khiếm thính bẩm sinh ở trẻ khiếm thính bẩm sinh tại Việt Nam bằng kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới (NGS).

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

¹ Trường Đại học Y Hà Nội

² Trường THPT Nguyễn An Ninh

³ Trường THPT Việt Đức

* Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Nguyễn Thị Trang

Email: trangtrang1182@yahoo.com

Ngày nhận bài: 15/5/2017

Ngày phản biện: 19/5/2017

Ngày chấp nhận đăng: 8/9/2017

Đối tượng tham gia nghiên cứu gồm 80 trẻ khiếm thính được chỉ định cấy điện cực ốc tai tại Khoa tai mũi họng, bệnh viện Đại học Y Hà Nội và 100 trẻ có sức nghe bình thường tại các Trường THCS khu vực Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

DNA bộ gen được tách chiết từ mẫu máu ngoại vi của 100 người có sức nghe bình thường và 80 trẻ khiếm thính bằng bằng DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen). ADN của bệnh nhân sau khi tách chiết tại Phòng di truyền phân tử Trung tâm tư vấn di truyền, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, được cắt thành những đoạn exon V6 nhỏ có kích thước 150 - 200bp bằng kit Aligent SureSelect Human All Exon V6 (Aligent technology CA, USA). Sau đó sẽ được gửi sang công ty CapitalBio, Mỹ để lai các đoạn ADN trên với các đoạn dò có gắn hạt biotin. Tiến hành gắn Streptavidin lên những đoạn ADN lai ghép. Rửa sạch các hạt biotin - streptavidin, chỉ giữ lại những mạch đơn (của bệnh nhân). Những mạch đơn này sẽ được thực hiện phản ứng nhân gen PCR. Sản phẩm thu được chuẩn bị cho quá trình giải trình tự tự động trên máy giải trình tự thế hệ mới Bioelectron 4000 sử dụng chip bán dẫn semiconductor với các môi thiết kế sẵn cho 100 đột biến trên 18 gen (CapitalBio, Mỹ). (Bảng 1).

Các số liệu thu được trong nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm excel 2017.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong số 80 trẻ khiếm thính tham gia xét nghiệm, có 17 trường hợp mang đột biến gen được phát hiện, chiếm tỉ lệ 21.25%. Phát hiện 10 trường hợp đột biến gen GJB2 gồm: có 2 trường hợp đột biến đồng hợp; 5 trường hợp dị hợp với đột biến c.299_300delAT trong đó có 2 trường hợp phát hiện dị hợp tử kép: 1 trường hợp dị hợp kép c.2168A>G (gen SLC26A4) và 299_300delAT (gen GJB2); 1 trường hợp dị hợp kép c.299_300delAT và c.235delC (cả 2 đột biến đều thuộc gen GJB2). 3 trường hợp đột biến c.512insAACG.

Trên gen mã hóa 12S rRNA, phát hiện được 2 trường hợp đột biến đồng hợp m.827A>G và m.961delTinsC. Đối với gen

SLC26A4 có 2 trường hợp đột biến dị hợp: c.439A>G và c.2168A >G. 1 trường hợp dị hợp gen TMC1, 1 trường hợp dị hợp ở gen MT-TH, 1 trường hợp dị hợp ở gen MT-TL1. Không phát hiện đột biến trên gen GJB3. Tần suất phát hiện đột biến trên các gen GJB2, 12S rRNA, SLC26A4, TMC1, MT-TH, MT-TL1 và GJB3 lần lượt là 12.5% (10/80), 2.5% (2/80), 2.5% (2/80), 1.25% (1/80), 1.25% (1/80), 1.25% (1/80) và 0%. Số liệu chi tiết được thể hiện ở bảng 2.

4. BÀN LUẬN

Trong các dạng khiếm thính, khiếm thính do thần kinh cảm nhận không triệu chứng (non-syndromic sensorineural hearing loss - non-syndromic SNHL) chiếm đến 70% trường hợp. Có hai nhóm nguyên nhân gây khiếm thính chủ yếu là do di truyền và môi trường; trong đó, nhóm nguyên nhân có yếu tố di truyền chiếm hơn 50% [1] với 60 gen liên quan đến di truyền trên NST thường dạng lặn, 32 gen liên quan đến di truyền trên NST thường dạng trội, 4 gen di truyền liên kết giới tính dạng lặn và 2 gen di truyền liên quan ti thể (Hereditary Hearing Loss Home page Website - <http://hereditaryhearingloss.org>, thông tin cập nhật ngày 28/01/2016); trên mỗi gen này có khi lại chứa hàng chục, hàng trăm đột biến khiếm thính khác nhau. Tuy nhiên, các gen và đột biến gây bệnh lại có tính đặc thù chuyên biệt cho từng khu vực, quốc gia hay dân tộc nên việc sàng lọc có thể chỉ cần tập trung vào một số đột biến phổ biến cho một cộng đồng nhất định. Đây là một trong số ít các nghiên cứu về đột biến gen gây khiếm thính trong cộng đồng người Việt và là nghiên cứu đầu tiên sử dụng phương pháp giải trình tự gen trực tiếp phát hiện số lượng đột biến lớn: 100 đột biến trên 18 gen tại Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng, tỷ lệ phát hiện đột biến trên các gen GJB2, 12S rRNA, SLC26A4, TMC1, MT-TH, MT-TL1 và GJB3 lần lượt là 12.5% (10/80), 2.5% (2/80), 2.5% (2/80), 1.25% (1/80), 1.25% (1/80), 1.25% (1/80) và 0%.

Như vậy, đột biến ở gen GJB2 chiếm tỉ lệ cao nhất ở cả 2 dạng đồng hợp và dị hợp tử với tỷ lệ 12.5% trong nhóm người khiếm thính

khảo sát, tỉ lệ này cao gấp 4 lần với tỷ lệ xuất hiện đột biến gen GJB2 ở trẻ khiếm thính Việt Nam của nghiên cứu của Nguyễn Thị Trang và cs. (2015) là 3,95% khi khảo sát 9 đột biến

gen khiếm thính bẩm sinh bằng công nghệ DNA microarray. Đột biến gen trên 12S rRNA và SLC26A4 chiếm tỉ lệ cao thứ 2 với 2.5%, tương đương 2 trường hợp ở mỗi gen.

Bảng 1. 100 đột biến của 18 gen

N	Gen	Đột biến	N	Gen	Đột biến	N	Gen	Đột biến
1.	GJB2	c.235delC	35.	SLC26A4 (tiếp)	c.679G>C	69.	GJB3 (tiếp)	c.538C>T
2.		c.299-300delAT	36.		IVS14-2A>G	70.		c.574G>A
3.		c.35delG	37.		c.919-18T>G	71.		c.423delATT
4.		c.176-191del16	38.		c.920C>T	72.		c.497A>G
5.		c.167delT	39.		c.109G>T	73.		c.421A>G
6.		c.512insAACG	40.		c.1160C>T	74.	MT-RNR1	m.1555A>G
7.		c.456C>A	41.		ct.1181_1183 delTCT	75.		m.1494C>T
8.		c.456C>G	42.		c.1318A>T	76.		m.827A>G
9.		c.427C>T	43.		c.1336C>T	77.		m.961delTinsC
10.		c.416G>A	44.		c.1555_1556 delAA	78.	MT-CO1	m.7444G>A
11.		c.257C>G	45.		c.1586T>G	79.	MT-TL1	m.3243A>G
12.		c.253T>C	46.		c.1594A>C	80.	MT-TS1	m.7445A>G
13.		c.109G>A	47.		c.1634T>C	81.		m.7505T>C
14.		c.99delT	48.		c.1673A>T	82.		m.7511T>C
15.		c.94C>T	49.		c.1717G>T	83.	MT-TH	m.12201T>C
16.	SLC26A4	IVS7-2A>G	50.	GJB3	c.1746delG	84.	DSPP	c.52G>T
17.		c.2168A>G	51.		c.2054G>G	85.	GPR98	c.10088_10091 delTAAG
18.		c.1229C>T	52.		c.2082delA	86.	DFNA5	IVS8+4A>G
19.		c.1147A>T	53.		c.2107C>G	87.	TMC1	c.150delT
20.		c.1975G>C	54.		c.227C>T	88.		IVS15+5G>A
21.		c.2027T>A	55.		c.230A>T	89.	MYO7A	c.625G>A
22.		c.2162C>T	56.		c.269C>T	90.		c.731G>C
23.		c.589G>A	57.		c.589G>A	91.	TECTA	c.4525T>G
24.		c.1226G>A	58.		c.349delC	92.	DIABLO	c.377C>T
25.		c.281C>T	59.		c.387delC	93.	COCH	c.1535T>C
26.		IVS15+5G>A	60.		c.404A>G	94.		c.1625G>A
27.		c.2086C>T	61.		c.439A.C>G	95.	MYO15A	c.8183G>A
28.		c.745T>C	62.		c.697G>C	96.		c.8767C>T
29.		c.1079C>T	63.		c.812A>G	97.	PRPS1	c.193G>A
30.		c.259G>T	64.		IVS10-12T>A	98.		c.259A>G
31.		c.1343C>T	65.		IVS13+9C>G	99.		c.869T>C
32.		c.1540C>T	66.		IVS14+1G>A	100.		c.916G>A
33.		c.1919G>T	67.		IVS14-1G>A			
34.		c.2000T>C	68.		IVS16-6G>A			

Bảng 2. Các đột biến và tỉ lệ phát hiện

Gen	Loại đột biến	Số trường hợp		Tỷ lệ (%)	Tỷ lệ phát hiện trong toàn nhóm nghiên cứu	
		Đồng hợp	Dị hợp			
GJB2	c.299-300delAT	0	5*	29,41	6.25	Tổng
	c.235delC	0	2	11,76	2.5	12.5
	c.512insAACG	2	1	17,66	3.75	
MT	m.827A>G	1	0	5,9	1.25	2.5
RNR1	m.961delTinsC	1	0	5,9	1.25	
SLC26A4	c.2168A>G	0	1	5,9	1.25	1.25
	c.439A>G	0	1	5,9	1.25	1.25
TMC1	c.1334G>A	0	1	5,9	1.25	1.25
MT-TL1	m.3243A>G	0	1	5,9	1.25	1.25
MT-TH	m.12201T>C	0	1	5,9	1.25	1.25
Tổng		17		100%		

*Có 2 trường hợp mang cả 2 đột biến: 1 trường hợp mang đột biến c.2168A>G và 299_300delAT, 1 trường hợp mang đột biến c.235delC và 299_300delAT. Các tính toán về tỉ lệ và tần suất vì thế tính 5 trường hợp cho đột biến 299_300delAT.

GJB2 mã hóa connexin 26 (Cx26) của tai trong. Những đột biến trên GJB2 có liên quan đến cả 2 dạng trội và lặn, ở cả 2 kiểu có hội chứng và không có hội chứng của khiếm thính. Đặc biệt, các đột biến trên gen GJB2 có thể chiếm đến 50% các trường hợp khiếm thính di truyền trên NST thường dạng lặn. Đây là gen đầu tiên được xác nhận có liên quan đến khiếm thính do thần kinh cảm giác (SNHR). Với cỡ mẫu khảo sát, phát hiện 2 trường hợp dị hợp tử kép (chiếm 14.29 % số trường hợp phát hiện đột biến) là 1 trường hợp dị hợp kép c.2168A>G (gen SLC26A4) và 299_300delAT (gen GJB2); 1 trường hợp dị hợp kép c.299_300delAT và c.235delC (cả 2 đột biến đều thuộc gen GJB2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi gần giống với một nghiên cứu ở Trung Quốc; theo đó, [235delC]/[299_300delAT] là kiểu gen dị hợp tử kép phổ biến nhất của GJB2.

Thống kê kết quả từ bảng 2 cho thấy ở đột biến c.299-300delAT thuộc gen GJB2, tỷ lệ bệnh nhân mang đột biến này là 6.25% chiếm tỷ lệ 29,41% trong toàn mẫu nghiên cứu (chiếm tỷ lệ đột biến cao nhất trong các loại đột biến), tỷ lệ này là cao hơn so với nghiên cứu của Quijin Wei (2013) phát hiện đột biến

299_300delAT chiếm tỷ lệ 4,71% trong số bệnh nhân nghiên cứu [5]; còn đột biến 235delC thuộc gen GJB2, tỷ lệ bệnh nhân mang đột biến này là 2.5% chiếm 11.76% (đứng thứ 2) trên tổng số mẫu nghiên cứu, tỷ lệ này thấp hơn khi so sánh với 3,95% trong báo cáo của Nguyễn Thùy Dương và cộng sự (2015) trên nhóm bệnh nhân khiếm thính tại Việt Nam [6], không phù hợp với Yuan Yong-yi và cộng sự (2007) thấy rằng đột biến 235delC chiếm tỷ lệ cao trong số đột biến GJB2 ở người châu Á (65,6% nhóm bệnh nhân Trung Quốc, 57,6% nhóm bệnh nhân Đài Loan, 34% trong nhóm bệnh nhân Nhật Bản...) [7]

Điều này có thể cho thấy tỷ lệ đột biến của một gen ở các chủng người khác nhau thì khác nhau. Trong nghiên cứu của chúng tôi có 2 trường hợp phát hiện đột biến đồng hợp tử gen 12S rARN (gen MT-RNR1) loại m.961delTinsC và m.827A>G có tỷ lệ bệnh nhân mang đột biến là 2.5% chiếm tỷ lệ 11.8% trên tổng số mẫu nghiên cứu. Nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Han et al. (2016). Một số nghiên cứu khác của Snatos (2005) cũng đã chỉ ra mối liên quan giữa đột biến gen TMC1, MT-TH, MT-TL1 với

khiếm thính bẩm sinh. Trong nghiên cứu của chúng tôi có gặp 3 trường hợp mang mỗi loại đột biến của 3 gen này.

Ngoài ra, chúng tôi chỉ phát hiện được 2 trường hợp mang đột biến 2168A>G (5,9%) và IVS7-2A>G (5,9%) ở gen SLC26A4, kết quả này khác với nghiên cứu của Yongzhi Liu và cộng sự (2016) nghiên cứu trên nhóm bệnh nhân Nội Mông thấy tỷ lệ đột biến gen IVS7-2A>G là 32,7% trong nhóm đột biến phát hiện được, còn tỷ lệ này của đột biến 2168A>G là 3,64% [8].

Việc phát hiện sớm gen này ở trẻ có ý nghĩa rất quan trọng vì trẻ nhỏ hơn 10 tuổi mang gen sử dụng thuốc aminoglycoside có nguy cơ cao bị khiếm thính đặc biệt là khi ở nước ta tỉ lệ sử dụng kháng sinh một cách bừa bãi còn rất cao. Nguyên nhân là do 12S rRNA ti thể là nơi mang các đột biến quan trọng liên quan đến cả khiếm thính do aminoglycoside và khiếm thính không hội chứng. Đây là một đột biến gen quan trọng gây bệnh điếc bẩm sinh ở trẻ và được di truyền qua DNA ở ti thể của người mẹ. Trong nghiên cứu này, không phát hiện thấy đột biến ở 100 mẫu máu của người bình thường.

5. KẾT LUẬN

1. Tỷ lệ đột biến gen ở nhóm trẻ khiếm thính là 21.25%. Trong đó đột biến gen GJB2 chiếm tỉ lệ cao nhất (12.5%) trong 18 gen được khảo sát.

2. Trong 100 đột biến trên 18 gen khảo sát tỷ lệ phát hiện đột biến trên các gen GJB2, 12S rRNA, SLC26A4, TMC1, MT-TH, MT-TL1 và GJB3 lần lượt là 12.5% (10/80), 2.5% (2/80), 2.5% (2/80), 1.25% (1/80), 1.25% (1/80), 1.25% (1/80) và 0%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. Rennels and L. K. Pickering (2005), Sensorineural hearing loss in children. *Lancet*, vol. 365, no. 9477, pp. 2085–2086.
2. D. Yan, H. J. Park, X. M. Ouyang et al (2003), Evidence of a founder effect for the 235delC mutation of GJB2 (connexin 26) in east Asians. *Hum. Genet.*, vol. 114, no. 1, pp. 44–50, 2003.
3. N. T. Duong (2015), Mutational analysis of GJB2, GJB6 and 12S rRNA genes in Vietnamese non-syndromic deaf children. *Asian J. Biomed. Pharm. Sci.*, vol. 05, no. 46, pp. 1–7, 2015.
4. X. Z. Liu, X. J. Xia, X. M. Ke et al (2000), The prevalence of connexin 26 (GJB2) mutations in the Chinese population. *Hum. Genet.*, vol. 111, pp. 394–397, 2002.
5. Qinjun Wei, Shuai Wang, Xin Cao et al (2013), Genetic mutations of GJB2 and mitochondrial 12S rRNA in nonsyndromic hearing loss in Jiangsu Province of China. *Journal of Translational Medicine*, 11, 163
6. Nguyễn Thùy Dương, Nguyễn Thị Xuân, Nguyễn Hải Hà et al (2015), Mutational analysis of GJB2, GJB6 and 12S rRNA genes in Vietnamese non-syndromic deaf children. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(46), 1 – 6.
7. Yuan Yong-yi, Dai Pu, Yu Fei et al (2007), GJB2 mutation spectrum in Inner Mongolia and its comparison with other Asian populations. *Journal of Otology*, 2(2), 81–91
8. Yongzhi Liu, Liying Ao, Haitao Ding et al (2016), Genetic frequencies related to severe or profound sensorineural hearing loss in Inner Mongolia Autonomous Region. *Genet. Mol. Biol.*, 39(4), 567 – 572

SUMMARY

APPLICATION OF NEXT GENERATION SEQUENCING UPON THE DETECTION OF 100
MUTATIONS IN 18 DEAFNESS GENES IN VIETNAMESE CHILDREN WITH
NON-SYNDROMIC HEARING LOSS

Pham Vu Hanh¹, Nguyen Thi Trang¹, Do Duc Huy¹,
Cao Minh Thanh¹, Nguyen Thi Nhan², Nguyen Hoang Son³, Hoang Nam Anh³
¹Hanoi Medical University,
²Nguyen An Ninh High School,
³Viet Duc High School

Introduction: There are 15000 hearing-impaired children are born in Vietnam every year. Early detection of common deafness mutations is a key factor for diagnosing, helping hearing-loss children to develop their language and awareness normally. **Objective:** To identify the carrier rate of common deafness mutations in Vietnamese population. **Methods:** 80 hearing-impaired and 100 normal children from Viet Nam. Apply technology of next generation sequencing to detect 100 mutations of 18 deafness genes, namely GJB2, GJB3, SLC26A4, MT-RNR1, MT-CO1, MT-TL1, MT-TS1, MT-TH, DSPP, GPR98, DFNA5, TMC1, MYO7A, TECTA, DIABLO, COCH, MYO15A and PRPS1. **Results:** Identify 17 mutations of deafness genes of 14 hearing-impaired patients (account for 21.25% in total), including: 8 cases of heterozygous mutations of genes GJB2 (5 cases of gene c.299-300delAT, 2 cases of gene c.235delC and 1 case of gene c.512insAACG); SLC26A4 (c.2168A>G and c.439A>G, 2 cases); TMC1 (c.1334G>A); MT-TH (m.12201T>C); MT-TL1 (m.3243A>G) and 4 cases of homozygous mutations of genes GJB2 (c.512insAACG, 2 cases), MT-RNR1 (m.827A>G, m.961delTinsC); No mutations were identified in the control group. **Conclusion:** The incidence of deafness mutations in hearing-loss group is 21.25%. Mutations of GJB2 cover the largest proportion (12,5%) among 18 genes investigated. In this review, we describe commonly used genomic technologies as well as the application of these technologies to the genetic diagnosis of deafness and to the discovery of novel genes for syndromic and nonsyndromic deafness.

Key words: NGS, deafness, hearing loss, GJB2, GJB3, SLC26A4, 12S rRNA