



УДК: 616. 28–008. 15: 575. 191 (470. 26)

МУТАЦИЯ 35^{DEL}G ГЕНА GJB2 В ЭТИОЛОГИИ ДОРЕЧЕВОЙ ГЛУХОТЫ В РЕГИОНЕ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

¹С. Г. Журавский, ²О. В. Гринчик,

³А. Е. Тараскина, ⁴С. А. Иванов, ¹В. А. Галкин

¹Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова

(Ректор – проф. М. Д. Дидур)

² Калининградская областная клиническая больница
(Главный врач – А. Ю. Горчаковская)

³ Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова РАН
(Директор – член-корр. РАН, проф. В. А. Назаренко), г. Санкт-Петербург

⁴ Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования
(Ректор – О. Г. Хурцилава)

В настоящее время с наследственной причиной связывают более половины случаев врожденной глухоты, встречаемость которой в популяциях составляет около 1 на 750–1000 новорожденных [10; 16]. Общепризнано, что наиболее частым молекулярным фактором доречевой сенсоневральной тугоухости (СНТ) – глухоты являются мутации гена GJB2 (локус 13q11–12), кодирующего белок межклеточных щелевых контактов коннексин 26 и ассоциированные со спорадической или передающейся по наследству несиндромной тугоухостью [10; 12; 13; 17]. Мутации гена GJB2 приводят к образованию стоп-кодона и преждевременному прекращению синтеза белка коннексина 26, определяющего пассивный транспорт электролитов, глюкозы, АТФ между клетками. В результате происходит апоптотическая гибель чувствительного волокового нейроэпителлия Кортиева органа [15]. Наиболее распространенной у белого европейского населения является мутация делеции гуанина в 35 положении гена GJB2 – 35delG [9; 12].

Мутация 35delG составляет 50–70 % от всех известных мутаций гена GJB2 и считается причиной более 20 % всех случаев ранней детской глухоты [10; 12]. Распространенность мажорных рецессивных мутаций гена коннексина 26 и, соответственно, частота встречаемости рецессивной доречевой глухоты оказываются значительно выше, чем других рецессивных мутаций и врожденных моногенных наследственных заболеваний человечества, таких как фенилкетонурия, гипотиреоз, муковисцидоз и гемохроматоз [9].

Актуальность проблемы ранней детской глухоты и распространение 35delG среди белых европейцев столь значительно, что явилось основанием для того, чтобы в ряде европейских стран в обязательном порядке проводить ее неонатальный скрининг для максимально раннего выявления детей с облигатным развитием глубокой слуховой дисфункции [17].

Поскольку мутация 35delG преимущественно распространена среди белого населения, ее считают главным претендентом для исследования при подозрении на генетическую природу СНТ на территориях проживания коренного славянского населения в России [1; 3; 4; 6; 7; 8].

Предыдущие наши исследования [6; 7] обнаружили необъяснимо высокую степень распространения гетерозигот среди здорового населения Северо-Западного региона России. Речь идет о г. Санкт-Петербурге, Ленинградской области и г. Архангельске, Архангельской области. В этих регионах гетерозиготное носительство составило 5,5 % и 4,7 % соответственно, что оказалось значительно выше среднеевропейского показателя около 2 % [9; 12; 17]. Объяснения



столь высокой распространенности мутации отсутствуют. Интерес вызывают фактические сведения о мутации 35delG и в других областях Северо-Запада России для получения суммарных представлений о частоте встречаемости генетической глухоты.

Цель работы – изучить распространенность мутации 35delG гена GJB2 среди лиц с фенотипом несиндромной доречевой СНТ III–IV степени глухоты в регионе Калининградской области.

Материалы и методы

Обследован 101 субъект (62 мужского и 39 женского пола) в возрасте от 1,5 до 22 лет с фенотипом доречевой СНТ III–IV степени, относящихся к белой расе, родители которых проживают на территории Калининградской области. Группу обследованных составили воспитанники двух коррекционных школ-интернатов I и II вида (для глухих и слабослышащих) г. Калининграда и Калининградской области.

Аудиологическое обследование у подавляющего большинства проводилось с применением традиционных акуметрических методик, тональной пороговой аудиометрии, исследования отоакустической эмиссии, слуховых вызванных потенциалов. Степень утраты слуха оценивалась по Российской классификации тугоухости. Причины возникновения глубокой слуховой дисфункции устанавливались по амбулаторным картам. Для ДНК-анализа геномную ДНК лейкоцитов периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции, затем растворяли в воде и хранили при температуре -20°C. Идентификация мутации 35delG в гене GJB2 проводилась по методу [18] с некоторыми модификациями [6]. Особенность настоящей работы в том, что молекулярному скринингу 35delG гена GJB2 был подвергнут материал ДНК всех пациентов, независимо от приводимой в медицинской документации причины утраты слуха.

Клиническое исследование проведено в соответствии с требованиями Этического комитета СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Забор крови для исследования осуществлялся на основании информированного согласия родителей глухих детей или опекуна.

Результаты и обсуждение

Результаты ДНК-анализа пациентов с прелингвальной СНТ представлены в таблице 1. В нашем исследовании мутация 35delG как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии выявлялась у 54,5 % пациентов. Среди беспричинной прелингвальной СНТ – значительно чаще – у 33 из 49 пациентов (67,3 %).

Таблица 1

Этиологические варианты глубокой доречевой тугоухости у детей в регионе г. Калининграда и Калининградской области и распространенность среди них мутации 35delG гена коннексина 26

Этиологический фактор утраты слуха	Количество пациентов	Количество носителей 35delG	
1. Неясная этиология	49 _(48,5%)	33 (26 гомозигот, 7 гетерозигот)	67,3 %
2. Семейная форма глухоты	19 _(18,8%)	17 (15 гомозигот, 2 гетерозиготы)	89,5 %
3. Перинатальное поражение ЦНС (аноксия, гипоксия)	13 _(12,9%)	1 (1 гомозигота)	7,7 %
4. Пре- и постнатальные инфекции	8 _(7,9%)	2 (2 гомозиготы)	25 %
5. Ототоксичность (аминогликозиды)	5 _(5%)	0	
6. Менингит	4 _(4%)	0	
7. Недоношенность	2 _(2%)	1 (1 гомозигота)	50 %
8. Гемолитическая болезнь	1 _(1%)	1 (1 гомозигота)	100 %
Итого	101 _(100%)	55 (46 гомозигот, 9 гетерозигот)	54,5 %



Анализируя встречаемость мутации 35delG гена коннексина 26 (GJB2) среди этиологических групп доречевой глухоты, видно, что мутация в подавляющем большинстве случаев (91 %) распространена среди двух групп: *семейной формы глухоты* и *при неясной причине возникновения патологии слуха у детей в здоровых семьях*. Большинство 35delG-положительных пациентов (70 %) были детьми родителей с клинически сохранным слухом. Это уже является классической клинической характеристикой мутации [10]. Однако обращает на себя внимание факт, что генетический фактор утраты слуха выявляется и среди других этиологических групп глухоты (суммарно у 5 из 24 обследуемых – 21 %), что в литературе совершенно не обсуждается. Подобное явление уже нами отмечалось ранее [6]. Причиной этого может быть и неверно установленный этиологический фактор утраты слуха по причине скудности в части случаев медицинских сведений. В то же время нами предполагается, что наличие мутации 35delG, являясь молекулярной основой и для «некохлеарных» проявлений [5; 11], может выступать нетипичным предрасполагающим патогенетическим условием для возникновения или усугубления степени тяжести определенной перинатальной патологии, самостоятельно также способной приводить к стойкой глубокой слуховой дисфункции.

Как полагаются в исследованиях подобного рода, интерес представляют сведения о бессимптомном гетерозиготном носительстве мутации 35delG в том же этногеографическом регионе, в котором находится и группа обследованных. Анализ ДНК крови доноров из популяционной среды жителей Калининградской области с клинически сохранным слухом выявил распространенность гетерозиготного носительства мутации 35delG гена GJB2 у 7,5 % (у 15 из 200 человек). Этот показатель оказывается значительно выше результатов наших предыдущих исследований гетерозиготного носительства мутации 35delG гена GJB2 среди здоровых в популяционных группах г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области (5,5 %) [6] и Архангельского края (4,7 %) [7]. Среди обилия информации о распространенности в популяционных группах современного человечества носителей 35delG встречаются только единичные работы, где обнаружены столь высокие показатели. Так, другая известная мажорная этническая мутация GJB2 167delT распространена на территориях, исторически сформированных еврейских анклавов на Палестинских землях у 7–20 % населения [14].

Таким образом, наши результаты в общем совпадают с известными мировыми данными – мутация 35delG, являясь мажорной для белого европейского населения, распространена в высокой степени и на территории Северо-Западного региона России. Причина столь значительного накопления генетического груза, видимо, в исторически длительной геополитической изолированности России от остального европейского мира. В то же время, помимо теории «эффекта основателя» для регионов проживания коренного населения, сегодня высказываются и крайне нестандартные предположения о возможной биологической целесообразности поддержания в популяциях определенного уровня гетерозигот ряда рецессивных мутаций [2], в том числе и мутаций гена коннексина 26 [11]. Однако все они не могут рассматриваться для обсуждаемого региона, поскольку современная популяционная группа г. Калининграда и Калининградской области образована только за последние 50 лет переселенцами из периферийных регионов Центральной России. Это исключает естественные биологические механизмы распространения мутации из-за крайне незначительного времени существования популяционной группы, а также фактор случайности (учитывая одновременно и крайне высокую распространенность 35delG в группе глухих с неясной причиной утраты слуха (67,3 %), и экстраординарную распространенность мутации среди популяционной группы региона в целом (7,5 %)). Исходя из этого, есть основания предполагать, что существуют некие небιологические (возможно, социальные) факторы, определяемые гетерозиготами рецессивных мутаций и способствующие накоплению их носителей при образовании новых популяционных групп в среде переселенцев.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о значительной распространенности генетического фактора – рецессивной мутации 35delG в гене GJB2 – среди как причин ранней детской утраты слуха, так и в популяционной группе Калининградской области. При столь высокой распространенности гетерозиготного носительства 35delG проблема наслед-



ственной рецессивной детской доречевой глухоты в России является не только вопросом детской сурдологии, специальной педагогики и социальных служб, но и становится актуальной национальной проблемой, требующей разработки, принятия и внедрения определенных (*специфических*) мер профилактики. Настоящие результаты, данные предыдущих исследований [4; 6; 7], а также имеющиеся отечественные литературные данные [1; 3; 8] являются основанием для разработки для регионов проживания европейского населения России национальной программы генетического скрининга в периоде новорожденности с целью раннего (доклинического) выявления индивидов с облигатным развитием к возрасту 1 года генетической глубокой тугоухости-глухоты. Результаты этого исследования подтверждают положение о первоочередном исследовании мутации 35delG в гене GJB2 при медико-генетическом консультировании детей как из семей с глухими родственниками, так и в случае, если глухой ребенок рождается у родителей со здоровым слухом.

Работа поддержана грантом для молодых докторов наук Президента РФ (МД-3049. 2007. 7).

ЛИТЕРАТУРА

1. 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 / И. М. Хидиятова, Л. У. Джемилева, Р. М. Хабибуллин и др. // Молек. биология. – 2006. – Т. 36. – №3. – С. 438–441.
2. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину / В. С. Баранов, Е. В. Баранова, Т. Э. Иващенко и др. СПб.: Интермедика, 2000. – 272 с.
3. ДНК-диагностика при врожденной и ранней детской тугоухости и глухоте / Т. Г. Маркова, С. М. Мегрелишвили, Н. Г. Зайцева и др. // Вестн. оторинолар. – 2002. – № 6. – С. 12–15.
4. Журавский С. Г. GJB2 – ген глухоты: от научных открытий к практическому приложению / С. Г. Журавский, А. И. Лопотко // Рос. оторинолар. – 2006. – № 3. – С. 74–86.
5. Клиническое значение носительства генетического полиморфизма коннексина 26 при раке желудка / В. М. Седов, А. Н. Яицкий, Е. Д. Мозговой и др. // Вестн. хирург. им. И. И. Грекова. – 2007. – Т. 166, № 6. – С. 11–14.
6. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости / С. Г. Журавский, А. Е. Тараскина, Т. Сетхиясилян и др. // Рос. оторинолар. – 2004. – № 4 (11). – С. 42–44.
7. Мутация 35delG гена коннексина 26 как причина прелингвальной сенсоневральной тугоухости в Архангельской области / С. Г. Журавский, А. Е. Тараскина, Е. В. Подлесный и др. // Экология человека. – 2008. – № 7. – С. 53–56.
8. Роль мутации 35delG в возникновении наследственных форм нейросенсорной глухоты в Ростовской области / Р. А. Шокарев, С. С. Амелина, Р. А. Зинченко и др. // Мед. генетика. – 2006. – Т. 5, Прилож. 1. – С. 38–43.
9. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment / L. Van Laer, P. Coucke, R. F. Mueller et al. // J. Med. Genet. – 2001. – Vol. 38. – P. 515–518.
10. Audiological Manifestations and features of Connexin 26 deafness / G. E. Green, R. F. Mueller, E. C. Cohn et al. // Audiolog. med. – 2003. – Vol. 1, N 1. – P. 5–11.
11. Common J. E. A. Further evidence for heterozygote advantage of GJB2 deafness mutations: a link with cell survival / J. E. A. Common, W. L. Di, D. Davies, D. P. Kelsell // J. Med. Genet. – 2004. – Vol. 41, N 7. – P. 573–575.
12. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neuro-sensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans / L. Zelante, P. Gasparini, X. Estivill et al. // Hum. Mol. Genet. – 1997. – Vol. 6. – P. 1605–9.
13. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness / D. P. Kelsell, J. Dunlop, H. P. Stevens et al. // Nature. – 1997. – Vol. 387. – P. 80–83.
14. Contribution of connexin 26 mutations to nonsyndromic deafness in Ashkenazi patients and the variable phenotypic effect of the mutation 167delT / I. Lerer, M. Sagi, E. Malamud et al. // Am. J. Med. Gen. – 2000. – Vol. 95, N 1. – P. 53–56.
15. Gap junctions in the rat cochlea: immunohistochemical and ultrastructural analysis / T. Kikuchi, R. S. Kimura, D. L. Paul et al. // Anat. Embryol. – 1995. – Vol. 191, N 1. – P. 101–18.
16. Morton N. E. Genetic epidemiology of hearing impairment / N. E. Morton // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1991. – Vol. 630. – P. 16–31.
17. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation / T. Antoniadi, A. Pampanos, M. B. Petersen et al. // Prenat. Diagn. – 2001. – Vol. 21, N 1. – P. 10–13.
18. Simsek M. A seminested PCR test for simultaneous detection of two common mutations (35delG and 167delT) in the connexin-26 gene / M. Simsek, N. Al-Wardy, M. Al-Khabory // Molecular Diagn. – 2001. – Vol. 6, N 1. – P. 63–67.