

УДК 616.28-008.14-056.7-053.2(740.11)

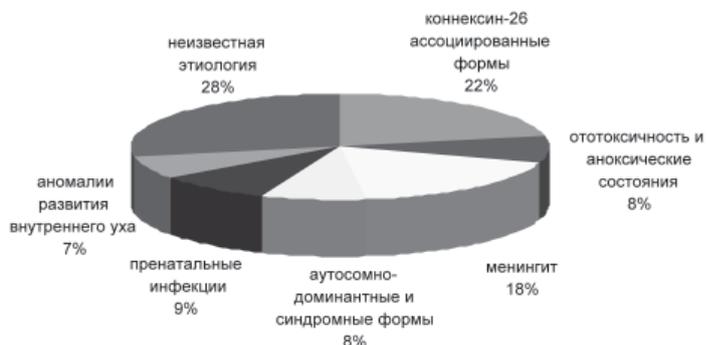
## МУТАЦИЯ 35delG ГЕНА КОННЕКСИНА-26 КАК ПРИЧИНА ПРЕЛИНГВАЛЬНОЙ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ В АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ\*

© 2008 г. <sup>1</sup>С. Г. Журавский, <sup>2</sup>А. Е. Тараскина,  
<sup>3</sup>Е. В. Подлесный, <sup>4</sup>О. В. Балдакова, <sup>5</sup>С. А. Иванов

<sup>1</sup>Государственный медицинский университет, <sup>2</sup>Институт ядерной физики РАН, <sup>5</sup>Медицинская академия последипломного образования, г. Санкт-Петербург<sup>3</sup>, Областная детская клиническая больница, г. Архангельск, <sup>4</sup>Коррекционная школа-интернат, г. Котлас Архангельской области

Стремительно начавшиеся молекулярно-биологические исследования в направлении изучения тугоухости привели к открытию в 1994 году первого из так называемых «глухих генов», наследственные мутации которых проявляются блокадой механо-электрической трансдукции — высокоспециализированного процесса в волосковых клетках, основы звуковой рецепции [12]. В настоящее время с наследственной причиной связывают более половины случаев врожденной глухоты, встречаемость которой в популяциях составляет ~ 1 на 750—1 000 новорожденных [8, 11] (рисунок). Этот показатель выше частоты таких врожденных наследственных болезней, как фенилкетонурия, гипотиреоз, муковисцидоз и гемохроматоз [14].

Наиболее частым молекулярным фактором доречевой сенсоневральной тугоухости (СНТ) — глухоты являются мутации гена GJB2 (локус 13q11—12), кодирующего белок межклеточных щелевых контактов коннексин-26, ассоциированные со спорадической или передающейся по наследству доречевой несиндромной СНТ [5, 8, 9, 15]. Мутации гена GJB2 приводят к образованию стоп-кодона и прекращению синтеза белка коннексина-26, определяющего пассивный транспорт электролитов между клетками. В результате наступает апоптотическая гибель чувствительного волоскового нейроэпителия Кортиева органа [10]. Значимость коннексиновых каналов для ряда млекопитающих еще более существенна. Трансгенные мыши, нокаутные по гену GJB2, демонстрируют раннюю эмбриональную летальность, указывающую на чрезвычайную важность функции коннексинового канала для внутриутробного морфогенеза мыши [6].



Структура этиологических факторов глухоты-тугоухости в прелингвальном периоде [7]

\*Работа поддержана грантом для молодых докторов наук Президента РФ (МД-3049.2007.7).

Ген GJB2, кодирующий белок межклеточных контактов коннексин-26, является основой фенотипа рецессивной несиндромной сенсоневральной тугоухости (СНТ), формирующейся в доречевом периоде. Проведен ДНК-скрининг мутации 35delG гена среди 68 пациентов в возрасте от 1,5 года до 23 лет из числа не связанных кровным родством коренных жителей Архангельской области, страдающих несиндромной прелингвальной СНТ III–IV степени. Носительство 35delG обнаружено у 23,5 % пациентов. При этом мутация 35delG выявлялась у 11 из 23 человек (48,0 %) с неясной причиной утраты слуха при здоровых родителях, и в 4 из 6 (67,0 %) случаев семейной глухоты. Таким образом, изучение в группе пациентов с глубокой доречевой тугоухостью распространенности только одной мутации гена GJB2 при исключении перинатальной, ототоксической и инфекционной патологии выявило генетический характер прелингвальной тугоухости в 50 % случаев (15 из 29 человек). Мутация 35delG является основной причиной развития спорадической рецессивной детской утраты слуха на севере Северо-Запада России.

**Ключевые слова:** ранняя детская доречевая глухота, несиндромная генетическая глухота, коннексин-26, мутация 35delG, ген GJB2.

Наиболее распространенной мутацией GJB2 у белого европейского населения является делеция гуанина в 35 положении гена — 35delG [14, 15]. Доля мутации 35delG составляет 50–70 % от всех известных мутаций гена GJB2 и более 20 % (!) всех случаев ранней детской глухоты [7]. Так как мутация 35delG преимущественно распространена среди белого населения, она в первую очередь является претендентом для исследования при подозрении на генетическую природу СНТ на территориях проживания коренных славянских народов [2–4].

Молекулярные, и в частности молекулярно-генетические, механизмы утраты слуховой функции сегодня являются объектом не только уточнения этиологии, но и разработки мер первичной профилактики, лечения и своевременной реабилитации глухоты. Особенность реализации молекулярной патофизиологии 35delG такова, что дети в этом случае рождаются с клинически сохраненным слухом, как правило, они проходят аудиотест и имеют незначительные изменения показателей амплитуды отоакустической эмиссии. Достаточно быстро прогрессирующий процесс угнетения слуха клинически становится явным к 6–8 месяцам — 1 году, а часто и значительно позже (как правило, из-за невнимательности медицинского персонала, осуществляющего патронаж, и родителей). При современных возможностях электроакустической коррекции слуха (цифровое слухопротезирование, кохлеарная имплантация) проблемой ранней детской глухоты становится не столько собственно дегенерация рецепторного звена слухового анализатора, сколько невозможное при поздних диагностике и начале реабилитации недоразвитие центрального звена слухового анализатора в отсутствие импульсации от рецепторного участка. Генетически обусловленная сенсорная акустическая депривация в период раннего детства драматически сказывается на развитии всего головного мозга ребенка, прежде всего корковых отделов слухового анализатора, речедвигательной коры. У ребенка четырех лет с прелингвальной глухотой головной мозг имеет массу на четверть меньшую по сравнению с возрастной нормой, меньшую (в 1,8 раза) толщину коры со сниженным в 1,5–2 раза нейроглиальным соотношением [1].

Сегодня доречевая слуховая дисфункция есть самая драматическая проблема современной сурдологии, поскольку исключение новорожденного и далее взрослеющего ребенка из спонтанной речевой среды приводит к вторичной депривации интеллектуального развития и, как следствие, нарушает социализацию индивида в обществе. Актуальность проблемы ранней детской глухоты и значительное распространение 35delG среди белых европейцев явилось основанием для того, чтобы в ряде европейских стран в обязательном порядке проводить ее неонатальный скрининг [5] для максимально раннего выявления

детей с облигатным развитием глубокой слуховой дисфункции.

Цель работы — изучить распространенность мутации 35delG гена GJB2 среди лиц с фенотипом несиндромной прелингвальной сенсоневральной тугоухости III–IV степени в Архангельской области.

#### Материалы и методы

Обследованы 68 пациентов (42 мужского и 26 женского пола) в возрасте от 1,5 года до 23 лет с фенотипом прелингвальной СНТ III–IV степени, относящихся к европеоидной расе, родители которых постоянно проживают на территории Архангельской области. Группу обследованных составили воспитанники коррекционной школы-интерната I и II вида (для глухих и слабослышащих) г. Котлас Архангельской области.

Аудиологическое обследование проводилось с применением традиционных акуметрических методик, тональной пороговой аудиометрии. Степень утраты слуха оценивалась по Российской классификации тугоухости. Причины возникновения глубокой слуховой дисфункции анализировались по амбулаторным картам.

ДНК-анализ пациентов выполнялся в лаборатории молекулярной генетики человека Института ядерной физики им. Б. П. Константинова РАН. Для ДНК-анализа геномную ДНК лейкоцитов периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции, затем растворяли в воде и хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Идентификация мутации 35delG в гене GJB2 проводилась по методу [13] с некоторыми модификациями [2].

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.

В нашем исследовании мутация 35delG выявлялась у 23,5 % пациентов (17,5 % в гомозиготном состоянии, 6,0 % — в гетерозиготном). Среди детей с беспричинной прелингвальной СНТ мутация обнаруживалась значительно чаще — у 11 из 23 обследованных (48,0 %).

Важно обратить внимание на то, что ранняя утрата слуха у потомства, обусловленная мутацией 35delG, в большей мере является проблемой здоровых родителей. Большинство 35delG-положительных пациентов (75,0 %) были детьми родителей с фенотипически здоровым слухом. В этом отношении большой интерес представляют сведения о бессимптомном гетерозиготном носительстве мутации 35delG в том же этногеографическом регионе, в котором находится и группа обследованных, что является следующим

## Этиологические варианты глубокой тугоухости у детей в Архангельской области и распространенность среди них мутации 35delG

Этиологический фактор утраты слуха	Количество пациентов	Количество носителей 35delG
Неясная этиология	23	11 (7 гомозигот, 4 гетерозиготы)
Семейная форма глухоты	6	4 гомозиготы
Перинатальное поражение ЦНС	22	1 гомозигота
Аминогликозидные антибиотики	3	0
Менингит	11	0
Врожденный сифилис	2	0
Контакт с краснухой	1	0

этапом работы. Наши данные в общем совпадают с известной мировой статистикой (см. рисунок). При этом, прогнозируя дальнейшие исследования, можно ожидать, что, в силу территориальной и исторически долгое время складывающейся политической изолированности славянского населения от остального европейского мира, частота распространения рецессивной мутации 35delG в целом в европейской части России окажется значительно выше.

Поскольку мутация 35delG является рецессивной, фенотипически она проявляется только в гомозиготном состоянии. Это означает, что, если тугоухость развивается у носителей-гетерозигот по мутации 35delG, ее причиной может быть другая мутация в гене GJB2 либо мутационные нарушения в других генах. По этим же причинам должно быть очевидно, что при фенотипе спонтанной прелингвальной тугоухости отрицательный результат при типировании мутации 35delG не может исключать генетической природы утраты слуха, которая так же, как и в случае тугоухости при гетерозиготном носительстве 35delG, может быть связана как с другим локусом гена GJB2, так и с другим причинным геном.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о присутствии известного генетического фактора доречевой глухоты белых европейцев — рецессивной мутации 35delG гена GJB2 — среди населения Архангельской области. Настоящие результаты, а также данные наших предыдущих исследований [2, 3] являются основанием для инициации разработки национальной программы скрининга новорожденных для регионов постоянного проживания европейского населения России на предмет раннего выявления индивидов с облигатным развитием генетической глубокой тугоухости в возрасте после одного года. Кроме того, необходимо подчеркнуть важность исследования мутации 35delG в гене GJB2 при проведении пренатальной диагностики в семьях с глухими родственниками.

## Список литературы

1. Боголепова И. Н. Особенности строения речедвигательной коры лобной области мозга глухонемого ребенка / И. Н. Боголепова, Л. И. Малофеева, Т. В. Белоград // Морфология. — 2002. — № 5. — С. 28–31.
2. Журавский С. Г. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости / С. Г. Журавский, А. Е. Тараскина, Т. Сетхиясилян и др. // Рос. оторинолар. — 2004. — № 4(11). — С. 42–44.
3. Журавский С. Г. GJB2 — ген глухоты: от научных открытий к практическому приложению / С. Г. Журавский, А. И. Лопотко // Там же. — 2006. — № 3. — С. 74–86.
4. Маркова Т. Г. 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.
5. Antoniadi T. 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.
6. Gabriel H. D. Transplacental uptake of glucose is decreased in embryonic-lethal connexin 26-deficient mice / H. D. Gabriel, D. Jung, C. Butzler et al. // J. Cell. Biol. — 1998. — Vol. 140. — P. 1453–1461.
7. Green G. E. 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.
8. Green G. E. Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness / G. E. Green, D. A. Scott, G. G. McDonald et al. // JAMA. — 1999. — Vol. 281. — P. 2211–2216.
9. Kelsell D. P. 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.
10. Kikuchi T. 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. 101–118.
11. Morton N. E. Genetic epidemiology of hearing impairment / N. E. Morton // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1991. — Vol. 630. — P. 16–31.
12. Petit C. Molecular genetics of hearing loss / C. Petit, J. Leveilliers, J.-P. Hardelin // Ann. Rev. Genet. — 2001. — N 35. — P. 589–646.
13. 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.
14. Van Laer L. 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.
15. Zelante L. Connexin26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans / L. Zelante, P. Gasparini, X. Estivill et al. // Hum. Mol. Genet. — 1997. — Vol. 6. — P. 16059.

**MUTATION OF 35delG GENE CONNEXIN-26 AS REASON OF PRELINGUAL SENSORINEURAL HEARING LOSS IN ARKHANGELSK REGION**

<sup>1</sup>S. G. Zhuravsky, <sup>2</sup>A. E. Taraskina, <sup>3</sup>E. V. Podlesny, <sup>4</sup>O. V. Baldakova, <sup>5</sup>S. A. Ivanov

<sup>1</sup> State Medical University named after Acad. I. P. Pavlov,

<sup>2</sup> Institute of Nuclear Physics named after B. P. Konstantinov, RAS, Saint-Petersburg

<sup>3</sup> Regional Children's Clinical Hospital named after P. G. Vyzhetsov, Arkhangelsk

<sup>4</sup> Correctional Boarding School I and II type, Kotlas of Arkhangelsk region

<sup>5</sup> Medical Academy of Postgraduate Education, Saint-Petersburg

Gene GJB2 related to protein of intercellular structures connexin-26 serves as a basis for the phenotype of recessive non-syndromic sensorineural hearing loss (SNHL) that is formed during the prelingual period. A DNA-screening of 35delG gene mutation has been conducted among 68 patients aged 1.5 – 23 of the Arkhangelsk region natives being not in blood relationships, suffering from non-syndromic prelingual SNHL

of III–IV degrees. 35delG carrier state has been discovered in 23.5 % of the patients. 35delG mutation was detected in 11 of 23 persons (48.0 %) with unclear reasons of hearing loss and healthy parents, and in 4 of 6 (67.0 %) cases of family deafness. Thus, the study of prevalence of only one gene GJB2 mutation excluding perinatal, ototoxic and infectious pathologies in the patients' group with deep prelingual hearing loss has detected genetic character of prelingual hearing loss in 50 % of cases (15 of 29 persons). Mutation 35delG was the main reason of development of children's sporadic recessive hearing loss in the North-West of Russia.

**Key words:** early children's prelingual deafness, non-syndromic genetic deafness, connexin-26, mutation 35delG, gene GJB2

**Контактная информация:**

*Журавский Сергей Григорьевич* – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории слуха и речи НИЦ СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова

Адрес: 197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8, СПбГМУ им. И. П. Павлова

Тел. (812) 234-05-76

E-mail: s.jour@mail.ru

Статья поступила 06.11.2007 г.