



УДК: 616. 28–008. 14:615. 216. 85

СЛУХОСОХРАНЯЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ МУТАЦИИ 35^{DEL}G ГЕНА КОННЕКСИНА 26 (GJB2): ВОЗМОЖНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПОИСКА

С. Г. Журавский

Государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,

г. Санкт-Петербург

(Ректор – проф. М. Д. Дидур)

Молекулярные, и в частности молекулярно-генетические, условия патологических процессов сегодня являются не только объектом выявления этиологии, изучения патогенеза, но и становятся основой для разработки мер первичной профилактики, лечения и своевременной реабилитации. В ЛОР патологии в первую очередь это относится к наследственной доречевой рецессивной сенсоневральной тугоухости (СНТ) при мутациях гена белка щелевых контактов коннексина 26 (GJB2), в частности 35delG.

Мутация 35delG является мажорной для европейского населения, представляя 50–70% случаев всех известных мутаций гена GJB2 [8]. В связи с этим во всем мире мутацию 35delG считают первостепенным объектом для исследования при подозрении на генетическую природу доречевой СНТ у белого населения, что также правомерно и для территорий России, исторически населяемых народами европеоидной расы [3; 4; 5; 6; 7].

Учитывая известные представления о молекулярном патогенезе мутации 35delG, есть основания считать, что дети-носители рождаются с сохранным слухом. Это подтверждают как клинические данные отсутствия глухоты при рождении, поскольку в том случае аудиотест и исследование отоакустической эмиссии не выявляют признаков слуховой дисфункции, так и экспериментальные исследования. У новорожденных мутантных мышей с нокаутным геном Sx26 при морфологическом анализе внутреннего уха выявляют нормально развитый спиральный орган. Признаки клеточной смерти волоскового нейроэпителия в этом случае начинают отмечаться с 14 дня постнатального развития – с момента начала слышания [15].

При коннексиновых мутациях быстро прогрессирующее угнетение слуха клинически уже может быть заметным к 6–8 месяцу – 1 году. Однако подозрения на нарушение слуха возникают, как правило, значительно позже по причине невнимательности медицинского персонала, осуществляющего патронаж и родителей. Эти фенотипические особенности стали основанием для внедрения в странах, где имеется значительное распространение гетерозиготных носителей 35delG, например в Греции, ДНК-скрининга всех новорожденных с целью раннего (а именно, еще на доклиническом этапе) выявления носительства 35delG, со временем obligatно приводящего к развитию глубокой утраты слуха [13].

Этапом, следующим за выявлением доречевой тугоухости, становится последовательность реабилитационных мероприятий, направленных на предотвращение, в период отсутствия импульсации от слухового рецептора, невосполнимого в последующих периодах жизни ребенка и взрослого, недоразвития центрального звена слухового анализатора, речедвигательной коры [2]. Стратегия реабилитации пациентов с глубокими нарушениями слуха коннексиновой природы сегодня считается разработанной (двухстороннее слухопротезирование, кохлеарная имплантация, ранние сурдопедагогические занятия). Проблема остается только в ранней диагностике, что позволяет оперативно получить слуховые аппараты, своевременно определить показания для операции кохлеарной имплантации, выполнить ее и начать профессиональные сурдопедагогические занятия. Сегодня, когда внедрение государственной программы аудио-



логического скрининга новорожденных с применением электрофизиологических методик – створовых вызванных потенциалов (СВП), отоакустической эмиссии (ОАЭ) – дает возможность рано заподозрить, уточнить диагноз тугоухости и начать реабилитационные мероприятия, возникает следующий принципиально новый вопрос: возможно ли при облигатном развитии глубокой тугоухости к возрасту 1 года затормозить процесс угасания функции акустической рецепции в раннем неонатальном периоде на доклиническом этапе? Основанием для такого предположения являются клинические сведения о том, что при мутациях гена коннексина 26 формирование итоговой степени тугоухости наблюдается до периода двухлетнего возраста и далее не прогрессирует, что видимо указывает на компенсацию нарушений на третьем году жизни ребенка микроэлементного гомеостаза в эпителиальных структурах улитки. Этот факт может объясняться, началом экспрессии с этого момента белков с аналогичной канальной функцией относящихся как к другим генетическим системам, так и тому же семейству коннексинов [18]. Иными словами, предполагается, что существует временной период, воздействие в котором способно предотвратить или отсрочить этап наступления глубокой степени дегенерации рецепторного звена слухового анализатора при носительстве «глухих мутаций» коннексина 26.

В условиях наследственной патологии этиологическим лечением является генная терапия. Однако ее клиническая реальность – только перспектива не ближайшего будущего, поскольку существуют принципиально нерешенные вопросы на этапах доклинических испытаний. В то же время в условиях современных представлений о молекулярном патогенезе мутации 35delG (Схема 1) возможна разработка вариантов слухосохраняющей терапии патогенетического свойства. Аналогии последней сегодня используются при других известных генетических заболеваниях – таких, как фенилкетонурия, целиакия и др. Так, своевременное (раннее) исключение из пищевого рациона новорожденного продуктов, содержащих аминокислоту фенилаланин (для фенилкетонурии) и глиадин – белок зерна растений семейства злаковых (для целиакии) – предотвращает глубокую органную дегенерацию, тяжелую степень неврологической и соматической инвалидизации.

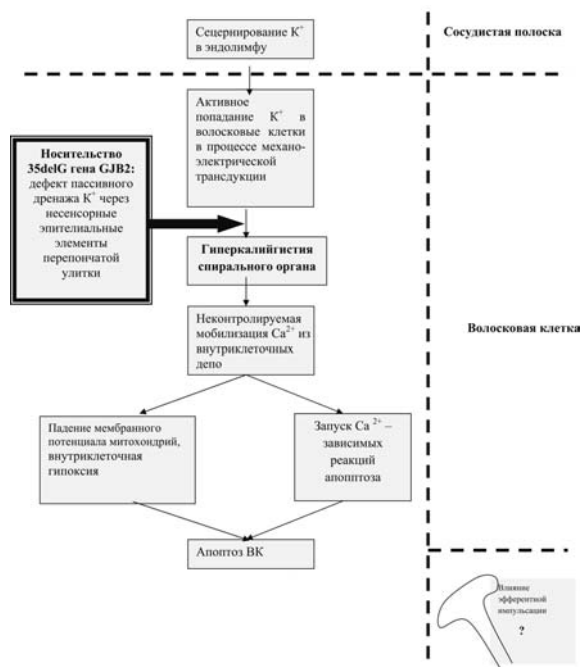


Схема 1. Молекулярный патогенез гибели спирального органа при мутациях гена *GJB2* белка межклеточных щелевых контактов коннексина 26 (по представлениям: Kikuchi T. et al., 1995; White T. W. et al., 1995; Lefebvre P. P. et al., 2000).

Таким образом, необходима разработка консервативного воздействия для периода первых полутора–двух лет жизни ребенка с патогенетической концепцией, предполагавшей бы частичную коррекцию фатальных нарушений гомеостаза в спиральном органе при дисфункции



межклеточного канала, образованного белком коннексином 26. Для такого воздействия имело бы смысл предложить термин «специфической отопротективной (слухосохраняющей) терапии».

Анализируя патогенез дегенерации волоскового нейроэпителия при мутации 35delG гена *GJB2*, гипотетически можно выделить ряд молекулярных механизмов для реализации задачи специфической отопротекции (табл. 1).

Таблица 1

**Возможные направления отопротективного воздействия
для проведения слухосохраняющей терапии
при рецессивной доречевой сенсоневральной тугоухости,
ассоциированной с мутациями гена коннексина 26 (*GJB2*)**

Предполагаемые механизмы отопротективного воздействия	Возможные группы фармакологических препаратов	Доступные лекарственные препараты
1. Блокада механизма сецернирования ионов K^+ сосудистой полоской	1. Ингибитор карбоангидразы	1. Диакарб.
	2. K^+ -сберегающие диуретики.	1. Спиронолактон.
2. Блокада K^+ -каналов мембран	1. Антихолинэстеразные средства.	1. Нейромидин.
3. Блокада внутриклеточных Ca^{2+} -зависимых реакций развития апоптоза	Антагонисты ионов Ca^{2+}	1. Верапамил. 2. Нимодипин. 3. Флунаризин.
4. Ингибирование эксайтотоксических реакций	Антагонисты с глутаматных рецепторов	1. Ионы магния. 2. Рибоксин. 3. Акатинол Мемантин.
5. Коррекция дисфункции митохондриальной энергетики	Антигипоксантаы	1. Сукцинат (янтарная кислота). 2. Малат (стимол).

Теоретически усматривается еще одно воздействие со слухосохраняющим эффектом – сокращение необходимости собственно калиевого входа за счет уменьшения колебаний базиллярной мембраны (уменьшение раздражения ВК путем снижения интенсивности акустической нагрузки), так называемая «функциональная иммобилизация», но сомнительно, что это могло бы быть применимым в периоде новорожденности, когда под влиянием звуковой сенсорики происходят активные процессы органогенеза слуховой коры головного мозга [10].

При обсуждении кандидатов на роль отопротекторов оправданно возникает условие необходимости у фармакологических препаратов еще одного фонового свойства – ототропности – способности проникать через клеточные структуры гематолабиринтного барьера. Гематолабиринтный барьер является самым высокоселективным из существующих гистогематических барьеров организма, что создает непреодолимое препятствие для проникновения в спиральный орган подавляющего большинства ксенобиотиков, в том числе и фармакологических препаратов. В то же время, гематолабиринтный барьер в периоде новорожденности характеризуется менее совершенными изолирующими свойствами [11; 14], по-видимому, в силу молекулярно-генетической и структурно-физиологической несформированности. Исходя из этого, есть основания предполагать, что возрастная функциональная недостаточность барьера, будет являться естественным условием, способствующим биодоступности ряда обсуждаемых выше препаратов к эпителиальным структурам улитки.

Таким образом, гипотетический специфический отопротектор должен в целом соответствовать следующим требованиям (табл. 2).

Заключение требует обязательного решения вопроса: каким образом, с учетом соблюдения известных этических рамок, клинически возможно решать эту задачу – задачу поиска отопротективных средств для слухосохраняющей терапии? Во-первых, существуют традиционный путь,



Фармако-физиологические характеристики «идеального отопротектора»
1. Предполагаемые фармакологические механизмы цитопротекции: антиоксидантное, нейротрофическое действие, блокада внутриклеточных Ca^{2+}-каналов, ингибирование экзайтотоксичности. 2. Действие на субклеточном уровне. 3. Способность проникать через гематолабиринтный (ототропность), гематоэнцефалический барьеры. 4. Неспецифичность по отношению к природе отопатогенного фактора. 5. Максимальная приближенность молекулярной структуры к физиологическим веществам. 6. Химическая и фармакологическая совместимость с препаратами, обладающими потенциальной ототоксичностью, в случае их совместного назначения. 7. Возможность длительного применения (отсутствие общей токсичности и минимальное количество побочных эффектов).

начиная с доклинических исследований на соответствующей трансгенной линии мышей [17]. Введение новорожденным животным по разработанному протоколу тестируемых препаратов под контролем амплитуды ОАЭ и СВП, а в заключении с ультраструктурной и морфологической оценкой сохранности нейроэпителиоцитов на плоскостных препаратах спирального органа. Однако мы бы хотели предложить для обсуждения возможность принципиально иного, не имеющего аналогов, способа решения задачи (заранее предполагая, что он не лишен ряда спорных вопросов). Итак, объектами для экспериментальной терапии предлагается избрать волонтеров-родителей, имеющих детей с генетической глухотой. Поскольку обсуждаемые мутации гена коннексина 26 являются рецессивными мутациями, клинически нарушением слуха они проявляются только в гомозиготном состоянии – при передаче ребенку двух мутантных генов от каждого из родителей. Родители, таким образом, имеют сохраненный слух, однако, демонстрируют, как результат гетерозиготного носительства мутации, клинически латентные отклонения от возрастной нормы амплитуды ОАЭ [16]. Таким образом, поскольку у гетерозиготных носителей все же существует неполная компенсации внутриулиткового гомеостаза, предлагается считать родителей-носителей мутации адекватной клинической моделью для скрининга отопротективных свойств у лекарственных препаратов. Следует ожидать, что препараты, обладающий свойствами «идеального отопротектора» в конечном итоге будут способствовать и улучшению функциональной активности ВК СО, в частности – физиологического феномена мотильности. Эффект стимуляции последней будет проявляться ростом амплитуды ОАЭ.

В качестве иллюстрации мы предлагаем описание двух клинических наблюдений.

Испытуемая Ф., 28 лет. Клинически здорова, имеет дочь, страдающую доречевой генетической глухотой. Среди ближайших родственников испытуемой и отца ребенка глухих и тугоухих нет. По данным молекулярно-генетического скрининга у дочери выявлено носительство гомозиготной формы мутации 35delG гена коннексина 26 (пациентка входила в клиническую группу, описанную нами ранее [5]). Испытуемая Ф., следовательно, является гетерозиготным носителем данной мутации. При сборе анамнеза жалоб на снижение слуха нет. При акустическом исследовании нарушения остроты слуха не выявлено. По данным тональной пороговой аудиометрии – слух в норме. Испытуемой предложено безвозмездно участвовать в клиническом эксперименте по скринингу отопротективных свойств ряда лекарственных препаратов, на что получено соответствующее информированное согласие.

Испытуемая прошла экспериментальный курс приема зарегистрированных фармакопейных препаратов по предложенной схеме. Запись показателей ОАЭ осуществлялась перед началом исследования и в последний день приема каждого препарата. Между экспериментальной терапией проводился 10-дневный перерыв. На фоне приема препаратов субъективных изменений остроты слуха не наблюдалось. В то же время при объективном исследовании в одном случае было отмечено заметное увеличение амплитуды ОАЭ (после приема янтарной кислоты) (рис. 1), и в одном случае (после приема диакарба) отмечалось явное угнетение ОАЭ (табл. 3). Изменения фиксировались симметрично с двух сторон.

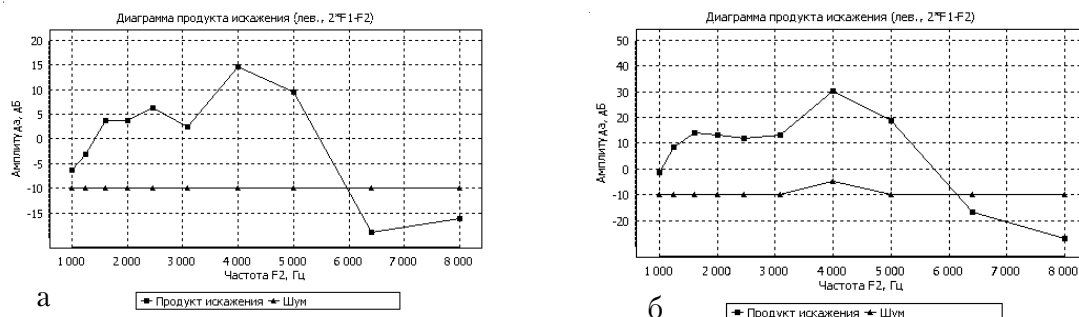


Рис. 1. Данные ОАЭ на частоте продукта искажения правого уха испытуемой Ф., 28 лет
А. Исходные показатели. Б. После приема янтарной кислоты 100 мг (2 тб х 3 раза в день, 3 нед).

Таблица 3

Результаты клинического эксперимента по скринингу отопротективных свойств
изучаемых лекарственных препаратов

Режим приема	Результат изменения амплитуды ОАЭ	
	Испытуемая Ф. (гетерозигота 35delG гена GJB2)	Испытуемая К. (дикий тип гена GJB2)
Янтарная к-та 100 мг 2 тб х 3 раза в день, 3 нед	+	0
Верапамил (изоптин) 40 мг 0,5 тб х 2 раза в день, 3 нед	0	0
Диакارب 125 мг 1 тб х 3 раза в нед, 3 нед.	-	0
Нейромидин 20 мг 1 тб х 3 раза в день, 3 нед	0	-
Акатинол Мемантин 10 мг 0,5 тб (1 раз перед сном, 3 нед	0	0

Примечание: «+» – прирост амплитуды ОАЭ на 5-10 дБ на 4 и более из 10 точек измерений;
«-» – угнетение амплитуды ОАЭ на 5-10 дБ на 4 и более из 10 точек измерений; 0 – нет изменений.

Испытуемая К., 34 лет. Клинически здорова, имеет сына, страдающего доречевой глухотой, этиологически связанной с острой асфиксией при патологически протекавших родах. Среди ближайших родственников испытуемой и отца ребенка глухих и тугоухих нет. По данным секвенирования гена GJB2 у ребенка выявлена последовательность дикого типа гена. Следовательно, с большой долей вероятности можно предполагать, что испытуемая К. имеет схожее строение интересующего гена.

Аналогично первому случаю, жалоб на снижение слуха нет, акуметрически и по данным аудиометрии – слух в норме. Испытуемая в аналогичных условиях прошла экспериментальный курс приема лекарственных препаратов. На фоне приема препаратов субъективных изменений слуха не наблюдалось. При этом после приема нейромидина наблюдалось явное угнетение амплитуды ОАЭ, тогда как остальные препараты какой-либо явно-заметной динамики в изменении амплитуды не демонстрировали.

Интерес при анализе двух клинических случаев вызывает как результат увеличения амплитуды ОАЭ после применения янтарной кислоты, так и, возможно, факт разнонаправленных изменений показателей ОАЭ при гетерозиготном носительстве мутации 35delG в сравнении с носительством дикого типа гена GJB2. Отмеченное наблюдение подтверждает наше предположение о возможности фармакологической компенсации нарушений внутриулиткового гомеостаза, вызванных дисфункцией канала в условиях генетической мутации гена коннексина 26.



Предлагаемые наблюдения являются клинической иллюстрацией оригинального подхода к поиску специфических отопротекторов при доречевой генетической рецессивной глухоте, ассоциированной с мутацией 35delG гена коннексина 26. Полученные результаты обнадеживают для продолжения исследования в выбранном направлении.

Таким образом, разработка специфической слухосохраняющей фармакокоррекции для новорожденных-носителей мутаций гена коннексина 26, облигатно способствующих развитию к концу первого года жизни глубокой СНТ - глухоты, является принципиально новой, не имеющей аналогов задачей, предполагающей коренные изменения в подходе к пациенту с развивающейся доречевой глухотой и имеющей значительные практические перспективы. Скрининг отопротекторов рационально проводить среди существующих фармакопейных групп лекарственных средств с фармакологическими механизмами действия, гипотетически способными блокировать звенья молекулярного патогенеза глухоты при дисфункции канала, вызванной мутациями гена белка щелевых контактов коннексина 26. Объектом для такого исследования предлагаются волонтеры – здоровые родители детей с генетической коннексин 26-ассоциированной глухотой, являющиеся гетерозиготными носителями мутаций и имеющие субклинические проявления слуховой дисфункции.

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. – N3. – С. 438–441.
2. Боголепова И. Н. Особенности строения речедвигательной коры лобной области мозга глухонемого ребенка / И. Н. Боголепова, Л. И. Малофеева, Т. В. Белогрудь // Морфология. – 2002. – №5. – С. 28–31.
3. ДНК-диагностика при врожденной и ранней детской тугоухости и глухоте / Т. Г. Маркова, С. М. Мегрелишвили, Н. Г. Зайцева и др. // Вестн. оториолар. – 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. оториолар. – 2006. – №. 3 – С. 74–86.
5. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости / С. Г. Журавский, А. Е. Тараскина, Т. Сетхиясилян и др. // Там же. – 2004. – №4 (11). – С. 42–44.
6. 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.
7. 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.
8. 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. 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. 10–18.
10. Illing R.-B. Maturation and plasticity of the central auditory system / R.-B. Illing // Acta Oto-Laryngol. – 2004. – Suppl. Vol. 552. – P. 6–10.
11. Increased ototoxicity in both young and old mice / K. R. Henry, R. A. Chole, M. D. McGinn et al. // Arch. Otolaryng. – 1981. – Vol. 107, №2. – P. 92–95.
12. Lefebvre P. P. Connexin, hearing and deafness: clinical aspects of mutations in the connexin26 gene / P. P. Lefebvre, T. R. Van de Water // Brain Res Brain Res. Rev. – 2000. – Vol. 32, N 1. – P. 159–162.
13. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation / T. Antoniadis, A. Pampanos, M. B. Petersen et al. // Prenat. Diagn. – 2001. – Vol. 21, N 1. – P. 10–13.
14. Sensitive developmental periods for kanamycin ototoxic effects on distortion-product otoacoustic emissions / C. M. Henley, R. A. Weatherly, G. K. Martin et al. // Hear. Res. – 1996 – Vol. 98. – P. 93 – 103.
15. Targeted ablation of connexin 26 in the inner ear epithelial gap junction network causes hearing impairment and cell death / M. Cohen-Salmon, T. Ott, V. Michel et al. // Curr. Biol. – 2002. – Vol. 12, N 13. – P. 1106 –1111.
16. The effects of a connexin 26 mutation - 35delG - on OAE and brainstem evoked potentials: homozygotes and carriers / B. Engel-Yeger, S. Zaaroura, J. Zlotogora et al. // Hear. Res. – 2002. – Vol. 163, N 1–2. – P. 93 –100.
17. 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.
18. White T. W. The connexin family of intercellular channel forming proteins / T. W. White, R. Bruzzone, D. L. Paul // Kidney Int. – 1995. – Vol. 48, N 4. – P. 1148 –1157.