

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕСИНДРОМАЛЬНОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

1УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
2ГНУ «Институт генетики и цитологии» НАН Беларуси,
3УЗ «Гомельская областная детская клиническая больница»

Статья посвящена впервые проведенному исследованию встречаемости мутации 35delG в гене GJB2 у детей, страдающих сенсоневральной тугоухостью. Выявлено, что вышеуказанная мутация является главной генетической причиной сенсоневральной тугоухости в нашей стране и выявляется в 59,3% случаев.

Ключевые слова: мутация 35delG, несиндромальная сенсоневральная тугоухость, факторы риска тугоухости

A. M. Levaya-Smolyak, M. G. Sinyavskaya, E. P. Merkulov, O. A. Oleinik, N. G. Danilenko, A. L. Gribachev

CLINICAL CHARACTERISTICS OF NON-SYNDROMIC SENSORINEURAL HEARING LOSS IN CHILDREN IN BELARUS

The article is devoted to the research for the first time the occurrence of mutations in the gene GJB2 35delG in children with sensorineural hearing loss. It was revealed that the above mutation is the primary genetic cause of sensorineural hearing loss in our country and is detected in 59.3% of cases.

Key words: 35delG mutation, non-syndromic sensorineural hearing loss, risk factors of hearing loss

Сенсоневральная тугоухость (СНТ) является одним из самых частых врожденных нарушений органов чувств с частотой встречаемости 1 – 2 ребенка на 1000 новорожденных для двусторонних глубоких нарушений слуха (> 70 ДБ) и более 4 детей на 1000, если включать легкие, средние и односторонние нарушения слуха [7]. Согласно прогнозам, к 2020 году ожидается увеличение численности населения с социально-значимыми дефектами слуха более, чем на 30 % [2]. Начиная с последнего десятилетия 20 века, началось развитие генетики слуховых нарушений. Исследования наследственной природы тугоухости в последнее десятилетие осуществляются в различных лабораториях и клиничко-диагностических центрах многих стран мира. К настоящему времени у человека известно почти сто генов, связанных с глухотой и тугоухостью, которые локализованы как в ядре, так и в митохондриях. Исследования, проведенные в разных странах мира, показали, что наиболее часто среди европейцев выявляются мутации в гене GJB2, кодирующем коннексин 26 [1, 3, 4, 5, 10]. В этом небольшом гене, состоящем из 681 нуклеотидов, описано к настоящему времени 90 различных мутаций. Основная мутация GJB2 – однонуклеотидная делеция 35delG – у жителей европейских стран обуславливает до 50% случаев нейросенсорной потери слуха [1, 4, 5, 8, 10].

В настоящее время все европейские страны провели исследования с целью уточнения встречаемости генов глухоты в здоровой популяции и среди слабослышащих людей.

В Беларуси исследования генетической природы несиндромальной СНТ проводились впервые. Целью нашего исследования явилось определение частоты встречаемости аутосомно-рецессивной мутации 35delG в группе слабослышащих детей Республики Беларусь (N = 392).

Материал и методы

Объекты исследования-392 слабослышащих ребенка в возрасте от 3 до 18 лет, постоянно проживающих в Республике Беларусь. Критериями исключения являлись дополнительные симптомы мальформации, односторонняя тугоухость, наличие когнитивных расстройств.

Для определения наличия пре-и пери-и постнатальных факторов риска были проанализированы учетные карты ребенка (форма 026У) и анкеты родителей слабослышащих детей (N = 341). В качестве пренатальных факторов отмечали: наличие аборт в анамнезе, перенесенные краснуха и токсоплазмоз во время беременности, прием ототоксических антибиотиков (ОТАБ) и злоупотребление алкоголя во

Таблица 1. Гендерная характеристика детей в зависимости от наличия мутации 35delG.

Наличие мутации 35delG	Абсолютное число пациентов(%)	
	Девочки	Мальчики
Гетерозиготы	30(58,8%)	21(41,2%)
Гомозиготы	87(46,8%)	92(51,4%)
Отсутствие мутации	67(41,1%)	96(58,9%)
Всего	184(46,8%)	209(53,2%)

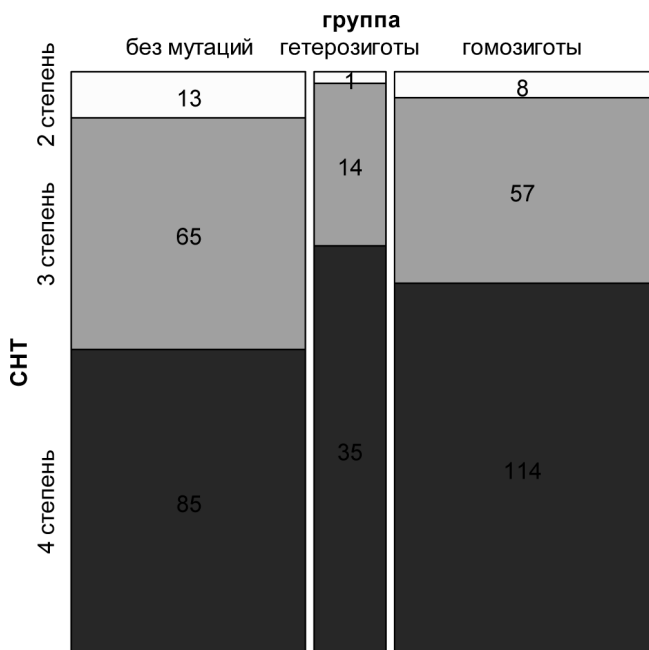


Рисунок 1. Степень тяжести тугоухости у пациентов 3 групп: *35delG* – гомо-, гетерозигот и в группе пациентов без данной мутации (*p* Фишера=0,086). Общее число обследованных N=392

время беременности, наличие осложнений во время беременности (многоводие, резус – конфликт, гестоз первой и второй половины беременности). Перинатальными факторами риска развития тугоухости считали недоношенность, низкую массу тела при рождении, гипоксию в родах, кесарево сечение, длительную искусственную вентиляцию лёгких в течение более 96 часов; гипербилирубинемия на уровне, требующем заменного переливания крови. В виде постнатальных факторов риска тугоухости регистрировали наличие отставания моторного развития, отиты в анамнезе, прием ОТАБ в раннем детстве.

Всем слабослышащим детям было проведено отоскопическое обследование, тональная пороговая аудиометрия в звукоизолированном помещении и тимпанометрия для исключения кондуктивного компонента тугоухости. Пороги восприятия звука определены для каждого уха отдельно.

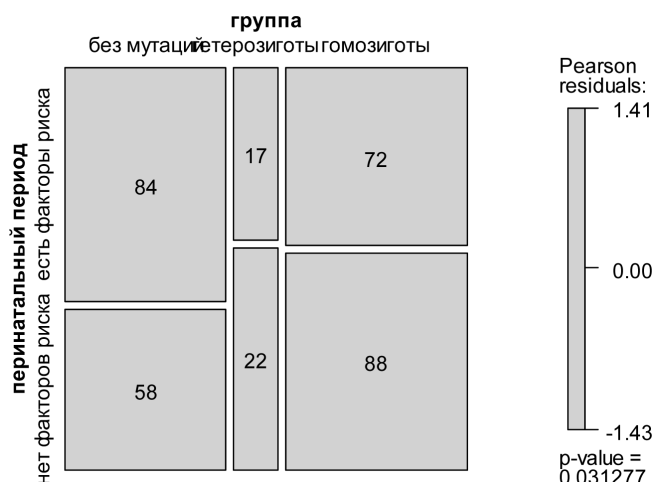


Рисунок 2. Встречаемость перинатальной патологии в трех анализируемых группах детей в зависимости от наличия мутации *35delG*. Цифры-показывают абсолютное число детей в группах. Общее число N=341.

Степень тяжести тугоухости диагностировали по лучше слышащему уху на частотах 500, 1000, 2000 и 4000 Гц соответственно с классификацией ВОЗ: легкая степень 26 – 40 ДБ, средняя – 41 – 55 ДБ, умеренно тяжелая – 56 – 70 ДБ, тяжелая – 71 – 90 ДБ, глубокая – более 90 ДБ [20]. Пределом определения звуковосприятия использованного нами аудиометра являлся порог слуха 100 Дб.

На первом этапе молекулярно – генетического тестирования была выделена ДНК из периферической крови слабослышащих детей [22]. На втором этапе была генотипирована *35delG* мутация методом PCR-PDRF с использованием эндонуклеазы MvaI [9].

Статистический анализ результатов клинических исследований проведен с использованием лицензионной программы «R-System-org». Сравнение данных в трех группах детей: без наличия мутации, с мутацией в гетерозиготном и гомозиготном состоянии проводили с помощью непараметрических тестов Фишера, Шапиро – Уилка, так как распределение данных не соответствовало нормальному. В качестве критического уровня значимости принималась характерная для медицинских исследований значения $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные генотипирования на наличие мутации *35delG* у 392 детей Республики Беларусь с СНТ показали, что 179 пациентов (45,5%) являются гомозиготами по этой мутации, 53 (13,8%) ребенка имеют только одну мутантную аллель (гетерозиготы), и у 160 (40,7%) детей мажорной мутации *35delG* не обнаружено. Таким образом, нами выявлено, что *35delG* точечная делеция является наиболее частой причиной СНТ (59,3% всех случаев) тугоухости у белорусских пациентов, что превышает данные в других европейских странах [1, 3, 4, 10].

Нами проведен анализ степени тяжести тугоухости у обследованных детей. Степень тяжести слуховых нарушений в зависимости от генотипа представлена на рис.1. В группе *35delG*-гомозигот наблюдается легкая тенденция (нет статистически достоверной разницы *p* Фишера>0,05) к превалированию более тяжелых нарушений слуха по сравнению с группой тугоухих пациентов без вышеописанной мутации.

Нами не установлено статистически достоверной разницы между тремя исследуемыми группами в гендерной характеристике пациентов (*p* Фишера>0,05).

Следующий этап нашего исследования заключался в срав-

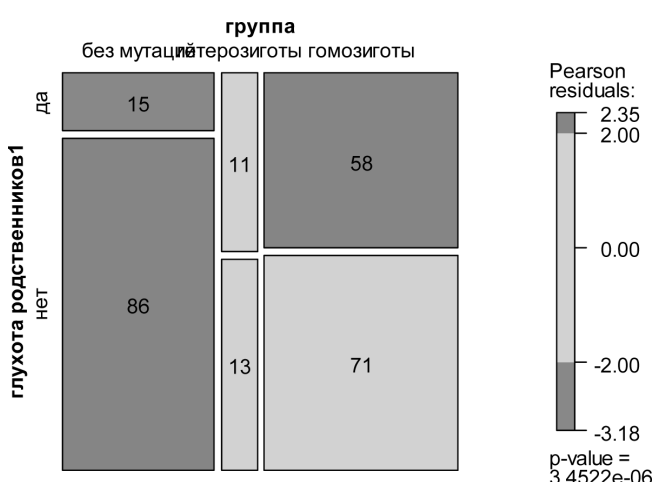


Рисунок 3. Частота встречаемости глухих родственников в трех анализируемых группах в зависимости от наличия мутации *35delG*. Цифры-показывают абсолютное число детей в группах. Общее число N=341 (*p* Фишера=0,0004).

Оригинальные научные публикации □

нительном анализе различных факторов риска, которые играют роль в этиопатогенезе СНТ у детей. Анализ факторов риска проведен в трех группах сравнения. Основопологающим принципом выделения групп было наличие мутации 35delG. С этой целью было проанализировано 341 анкета родителей слабослышащих детей и учетные карты ребенка. Сформированы три группы детей: 1. Группа без мутаций (N = 142); 2. Наличие мутации в гетерозиготном состоянии (N = 39); 3. Наличие мутации в гомозиготном состоянии (N = 160).

В результате анализа установлено, что пренатальная патология одинаково часто встречалась во всех трех группах (p Фишера=0,79).

Дальнейший анализ данных установил достоверное различие в группах по отношению встречаемости перинатальной патологии, что демонстрирует рисунок 3 (p Фишера = 0,03). Рождение ребенка с малым весом статистически достоверно увеличивает риск развития сенсоневральной тугоухости, так как в группе детей без мутаций число детей с низким весом достоверно превалирует (p Шапиро-Уилка=0,003).

Анализ роли факторов риска беременности, родов, периода новорожденности подтвердил факт задержки моторного развития у детей в группе негенетической природы тугоухости (p Шапиро-Уилка=0,007).

В то же время, такие заболевания как острый средний отит, прием ототоксических антибиотиков отмечен одинаково часто во всех трех группах (p Фишера=0,096 и p Фишера=0,207 соответственно).

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют, что необходимым условием ранней диагностики СНТ у детей является учет глухоты у ближайших родственников (родителей, братьев и сестер). Рисунок 3 демонстрирует достоверно высокую вероятность снижения функции органа слуха у родственников слабослышащих детей (p Фишера=0,0004), имеющих 35delG – ассоциированную тугоухость.

Выводы

1. Проведенное нами исследование выявило факт, что

однонуклеотидная делеция 35delG в гене *GJB2* является главной генетической причиной СНТ в Беларуси и определяется у 59,3% пациентов с нарушенным слухом в гомо-и гетерозиготном состоянии.

2. Проведенные нами исследования доказали необходимость учета факторов риска перинатального периода в этиопатогенезе сенсоневральных нарушений у детей. Установленный нами факт свидетельствует о целесообразности учета как факторов риска тугоухости, так и носительство генов глухоты у детей в алгоритме ранней диагностики нарушений слуха.

Литература

1. Журавский, С. Г., Тараскина А. Е., Курусь А. А., Иванов С. А., Гринчик О. В., Джемилёва Л. У., Хуснутдинова Э. К. Молекулярно-генетический анализ в установлении наследственной причины детской доречевой глухоты // Российская оториноларингология.-2009. – Приложение № 1. – С.70 – 73.
2. Загорянская, М. Е., Румянцова М. Г. Нарушение слуха у детей: эпидемиологическое исследование // Российская оториноларингология.-2003. – Т.3. – Стр. 79 – 83.
3. Маркова, Т. Г., Поляков А. В. Успехи генетического тестирования и вопросы профилактики наследственных нарушений слуха // Вестн оторинолар. 2006. – Т. 4. – Стр. 9 – 14.
4. Antoniad, T, Rabionet R, Kroupis C, Aperis GA et al. High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness // Clin Genet. – 1999. – Vol. 55, No5. – P.381 – 382.
5. Bitner-Glindzicz, M. Hereditary deafness and phenotyping in humans // Br. Med. Bull. – 2002. – Vol. 63. – P.73 – 94.
6. Green, GE, Smith RJ, Bent JP et al. Genetic testing to identify deaf newborns // JAMA – 2000. – Vol. 284. – P. 1245.
7. Mehl, AL, Thompson V. The Colorado newborn hearing screening project, 1992 – 1999: on the threshold of effective population – based universal newborn hearing screening // Pediatrics. – 2002. – Vol. 109. – E7.
8. Morton, N. E. Genetic epidemiology of hearing impairment // Ann NY Acad Sci. – 1991. – Vol. 630. – P.16 – 31.
9. Siemerling, K, Manji SS, Hutchison WM, Du Sart D et al. Detection of mutations in genes associated with hearing loss using a microarray-based approach // J Mol. Diagn. – 2006. – Vol. 8, No.4. – P.483 – 489.
10. Sterna, O., N. Prooina, I. Grinfelde et al. Spectrum and frequency of the *GJB2* gene mutations among Latvian patients with prelingual nonsyndromic hearing loss // Proceedings of the Latvian Academy of Science. Section B. – 2009. – Vol. 63, No. 4/5. – P. 198 – 203.