

*А. Л. Сухомясова, А. Н. Ноговицына, Н. Р. Максимова, П. И. Голикова, Ф. Ф. Васильев,
А. Л. Данилова, Е. В. Тапьев, Е. Е. Гуринова, Р. Н. Иванова, А. Е. Яковлева, С. Н. Васильева*

МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ БОЛЬНЫХ С НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕСИНДРОМАЛЬНОЙ ГЛУХОТОЙ

Аннотация. Цель настоящего исследования: разработка научно обоснованных предложений по подготовке региональных методов профилактики, диагностики и лечения несиндромальной глухоты/тугоухости, а также по повышению уровня доступности медико-генетической помощи населению Якутии.

Материалы и методы исследования. Впервые проведен анализ собственных клинических наблюдений врачами-генетиками родословных семей, состоящих на учете в медико-генетическом центре ГАУ РС (Я) «РБ№ 1-НЦМ» с диагнозом «наследственная врожденная глухота». Материалом для молекулярного исследования на самую частую для якутской популяции мутацию с.-23+1G>A в гене *GJB2* послужили образцы геномной ДНК лейкоцитов периферической крови индивидов (n=45) с диагнозом «наследственная нейросенсорная глухота/тугоухость 2-4 степени» из Банка ДНК.

СУХОМЯСОВА Айталина Лукична – кандидат медицинских наук, заведующий учебно-научной лабораторией «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», заведующий Медико-генетическим центром ГАУ РС (Я) «РБ№ 1-НЦМ», заместитель директора ООО МИП «Генодиагностика». Адрес: 677000, РС (Я), г. Якутск, ул. Кулаковского, 46. Телефон: 89241673946. E-mail: aitalinas@yandex.ru

SUKHOMYASOVA Aytalina Lukichna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Northeast Federal University named after M.K. Ammosova, Head of the Medical Genetics Center of the State Agrarian University of Sakha Republic (Yakutia) “RB №1 - NCM”. Address: 677000, RS (Y), Yakutsk, ul. Kulakovskogo, 46. Tel.: 89241673946. E-mail: aitalinas@yandex.ru

НОГОВИЦЫНА Анна Николаевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». Адрес: 677000, РС (Я), г. Якутск, ул. Кулаковского, 46. Телефон: 89246635394. E-mail: nogovan@yandex.ru

NOGOVITSYNA Anna Nikolaevna – Candidate of Medical Sciences, Candidate of Medical Sciences, researcher at the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute, North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. Address: 677000, RS (Y), Yakutsk, ul. Kulakovskogo, 46. E-mail: nogovan@yandex.ru

МАКСИМОВА Надежда Романовна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», директор МИП ООО «Генодиагностика». Адрес: 677000, РС (Я), г. Якутск, ул. Кулаковского, 46. E-mail: nogan@yandex.ru

MAKSIMOVA Nadezhda Romanovna – Doctor of Medicine, Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher of the Educational and Scientific Laboratory “Genomic Medicine”, Clinic of the Medical Institute of North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. Address: 677000, RS (Y), Yakutsk, ul. Kulakovskogo, 46. E-mail: nogan@yandex.ru

ГОЛИКОВА Полина Иннокентьевна – кандидат медицинских наук, главный инженер проекта учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». Адрес: 677000, РС (Я), г. Якутск, ул. Кулаковского, 46. Телефон: 89659968248. E-mail: gurievapi@yandex.ru

GOLIKOVA Polina Innokentievna – Candidate of Medical Science, Senior Engineer, Project Project of the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute of North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. Address: 677000, RS (Y), Yakutsk, ul. Kulakovskogo, 46. E-mail: gurievapi@yandex.ru

ВАСИЛЬЕВ Филипп Филиппович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». Адрес: 677000, РС (Я), г. Якутск, ул. Кулаковского, 46. E-mail: vasilyevmd@gmail.com

VASILIEV Philip Philipovich – Candidate of Medical Sciences, Researcher at the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute, North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. Address: 677000, RS (Y), Yakutsk, ul. Kulakovskogo, 46. E-mail: vasilyevmd@gmail.com

Результаты и обсуждение. Проведено молекулярно-генетическое исследование на наличие мутации с.-23+1G>A в гене *GJB2* в семьях пациентов с врожденной потерей слуха, состоящих на учете в медико-генетическом центре. Мажорная мутация была выявлена у 29 глухих (1-я группа – 64,44 %), из которых у 24 – гомозиготное наследование, у 5 – гетерозиготное. У 16 глухих (2-я группа – 35,55 %) исследуемая частая мутация не выявлена. Больные данной группы являются, предположительно, носителями других генов глухоты. Из 35 родословных количество ассортативных браков составило 31,42 %. В связи с внедрением молекулярной диагностики в практическое здравоохранение Якутии появилась возможность решить вопросы профилактики больных в семьях носителей мутации с.-23+1G>A в гене *GJB2*.

Выводы и заключение. Основной причиной наследственной несиндромальной глухоты якутских пациентов, обратившихся за медико-генетической консультацией, является мутация с.-23+1G>A в гене *GJB2*.

Разработаны и предложены рекомендации по дальнейшему изучению причин наследственной глухоты в регионе и её профилактике.

Ключевые слова: глухота, ген *GJB2*, мутация с.-23+1G>A, медико-генетическое консультирование, до-родовая диагностика и профилактика, Банк ДНК, Республика Саха (Якутия).

A. L. Sukhomyasova, A. N. Nogovicina, N. R. Maksimova, P. I. Golikova, F. F. Vasiliev, A. L. Danilova, E. V. Tapyev, E. E. Gurinova, R. N. Ivanova, A. E. Yakovleva, S. N. Vasilieva

Medical and genetical consultation of patients with hereditary nonsyndromal deafness

Abstract. To prevent and reduce hereditary deafness in the region, it is necessary to analyze the current medical genetic counseling of families with hereditary nonsyndromic deafness in the region and develop the necessary recommendations for further work.

The purpose of this study was to develop scientifically sound proposals for the development of regional methods for the prevention, diagnosis and treatment of nonsyndromic deafness / hearing loss, increasing the level of availability and quality of medical care for the population of Yakutia.

ДАНИЛОВА Анастасия Лукична – кандидат биологических наук, научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». E-mail: ana-danilova@yandex.ru

DANILOVA Anastasia Lukichna – Candidate of Biological Sciences, Researcher at the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute of North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. E-mail: ana-danilova@yandex.ru

ТАПЫЕВ Евгений Викторович – врач-лабораторный генетик Медико-Генетического Центра ГАУ РС (Я) «РБ№ 1-НЦМ». E-mail: t-evgeniy@list.ru

ТАПЫЕВ Evgeny Viktorovich – Doctor - Laboratory Geneticist of the Medical-Genetic Center GAU RS (Y) “RB№1-NCM”. E-mail: t-evgeniy@list.ru

ГУРИНОВА Елизавета Егоровна – врач-генетик Медико-генетического центра ГАУ РС (Я) «РБ№ 1 – НЦМ»

GURINOVA Elizaveta Egorovna – the geneticist of the Medical Genetic Center of the State Agrarian University RS (Y) “RB №1 - NCM”

ИВАНОВА Роза Николаевна – врач-генетик Медико-генетического центра ГАУ РС (Я) «РБ№ 1 – НЦМ»

IVANOVA Roza Nikolaevna – geneticist of the Medical Genetics Center of the State Agrarian University RS (Y) “RB №1 - NCM”

ЯКОВЛЕВА Александра Еремеевна – младший научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». E-mail: alexerem2013@yandex.ru

YAKOVLEVA Aleksandr Yeremeyevna – Junior Researcher at the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute of the North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. E-mail: alexerem2013@yandex.ru

ВАСИЛЬЕВА Сайына Николаевна – младший научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» Клиники Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова». E-mail: vsaina@yandex.ru

VASILYEVA Sayyuna Nikolaevna – Junior Researcher at the Genome Medicine Educational Laboratory, Clinic of the Medical Institute of the North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova. E-mail: vsaina@yandex.ru

Materials and methods of research. An analysis of pedigrees in families registered on the basis of the medical and genetic center Republican hospital No. 1-National Center of Medicine with the diagnosis of hereditary congenital deafness was carried out. The material for molecular research for the most common mutation for the Yakut population of c.-23 + 1G>A in the *GJB2* gene was samples of genomic DNA of peripheral blood leukocytes from 45 patients with the diagnosis: hereditary sensorineural deafness / hearing loss of degree 2-4.

Results and discussion. The number of assortative marriages was 33.3 % in 35 pedigrees. A molecular genetic study was conducted in the families examined for the presence of a mutation c.-23 + 1G>A in the *GJB2* gene in patients with congenital hearing loss of the registered medical genetic center. The mutation was detected in 44.4 % of the examined.

Conclusions and discussion: recommendations were developed and proposed for the prevention of hereditary deafness in the region.

Key words: deafness, gene *GJB2*, mutation c.-23 + 1G>A, medical genetic counseling, Republic of Sakha (Yakutia).

Введение

Нарушение слуха является наиболее распространенным сенсорным расстройством во всем мире, встречающимся примерно у одного из 1000 родившихся новорожденных. Более 50 % из этих случаев являются наследственными [1]. К другой группе можно отнести приобретенные нарушения слуха, возникшие в результате повреждения нормально сформированного слухового анализатора, чаще всего при воздействии спектра внешних факторов. Примерно 70 % случаев нарушений слуха, вызванных генетическими факторами, классифицируются как несиндромальные, когда единственным симптомом является нарушение слуха, и 30 % – как синдромальное нарушение слуха, связанное с другими клиническими особенностями [2].

Медико-генетическое консультирование и оценка риска для потомства зависят от точного генетического диагноза. ДНК-диагностика в генах, ответственных за нарушения слуха, позволяет проводить точное генетическое консультирование и планирование семьи, тестирование носителей для родственников, и может предоставить важную информацию о факторах риска. Кроме того, точная молекулярная диагностика может быть важна для планирования и оценки успеха таких видов лечения, как кохлеарная имплантация или, в будущем, генная терапия.

На сегодняшний день выявлено около 120 генетических локусов и более чем 200 кодирующих белки и мутации генов, которые являются причинами несиндромальной глухоты. 80 % несиндромальной глухоты составляют случаи, наследованные по аутосомно-рецессивному (АР) типу, 15-20 % случаев – по аутосомно-доминантному (АД), а остальные – с X-сцепленным наследованием [3].

Наиболее частой причиной несиндромальной аутосомно-рецессивной потери слуха у людей являются мутации в гене, локализованном в хромосомной области 13q11-q13, кодирующей коннексин 26 (Cx26), который является трансмембранным белком, участвующим в формировании коннексонов [4].

В Европе, Северной Америке и средиземноморских популяциях наиболее распространенной мутацией является удаление одного гуанина в серии из шести гуанинов, известной как 35delG. Эта мутация встречается в 70 % мутантных аллелей гена *GJB2*, частота носительства составляет около 1 на 51 в целом в Европе и значительно выше в некоторых группах населения [2, 4, 5].

Изучение других этнических групп показало, что доминирующие мутации в разных регионах и этнических расах могут варьироваться. Например, мутации 167delT, 427C>T наиболее распространены у евреев ашкенази с вероятной частотой встречаемости 3-4 % [5]. В популяциях Восточной Азии (японской, корейской и китайской), Южной Азии (тайской), Центральной Азии (монгольской), Южной Сибири (алтайской) является наиболее распространенной мутация 235delC, и три мутации: W24X, W77X и Q124X – были частыми в семьях из разных уголков индийского субконтинента [6, 7, 8].

Также впервые была выявлена в Восточной Сибири (Якутия) мутация c.-23+1G>A в гене *GJB2* в гомозиготном состоянии, специфичная только для якутской популяции: у живущей в

Якутии славянской этнической группы он отсутствовал. Распространенность аутосомно-рецессивной глухоты типа 1А составила 16,2 на 100 000 якутского населения, что характеризует Якутию как самый обширный мировой кластер данной мутации [9]. Кроме того, для популяции якутов при генотипировании семи STR-маркеров был выявлен общий гаплотип-основатель, несущий мутацию с.-23+1G>A, возраст экспансии которого оценивается приблизительно 800 лет [10]. Общность гаплотипов с мутацией с.-23+1G>A также была показана для гомозиготных по этой мутации глухих пациентов из Монголии и Турции [11].

Также были проведены исследования по поиску мутаций в других генах (*GJB6* и *GJB3*), установившие низкий вклад мутаций в этих генах в этиологию потери слуха в Якутии [12].

Исследования по потере слуха у гетерозиготных носителей мутации IVS1 + 1G.A (ген *GJB2*) и носителей генотипа *GJB2 wt/wt* в Республике Саха (Якутия) (Восточная Сибирь, Россия) показывают, что единственная мутация IVS1 + 1G.A (*GJB2*) связана с возрастным снижением слуха носителей мутации IVS1 + 1G.A у якутов [13].

Одним из последних новых методов лечения наследственной глухоты является кохлеарная имплантация. Первая кохлеарная имплантация больным из Республики Саха (Якутия) проведена на ребенку в 2 года 7 месяцев с гомозиготной мутацией 35delG (по этнической принадлежности украинец/русский) на базе ФГУ «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования» (Москва). Имплантация прошла успешно [14].

При внедрении молекулярных методов диагностики в практическую медицину увеличивается обращаемость в медико-генетический центр региона больных с наследственными болезнями. Причинами повышения обращаемости являются: проведение на бюджетной основе, бесплатно, молекулярной диагностики больным и родственникам с наследственной патологией, бесплатная пренатальная (дородовая) диагностика, необходимость проведения ДНК-анализа для прохождения комиссии МСЭК на инвалидность. При проведении медико-генетического консультирования больным разъясняется предполагаемый диагноз, прогноз продолжительности и качества жизни, генетический риск рождения больного ребенка. Родителям ребенка и/или больному предлагается заполнение информированного согласия на сбор крови, на выделение и хранения крови в виде ДНК для дальнейшей молекулярной диагностики наследственного заболевания. Если на момент сдачи крови на ДНК еще не разработан метод молекулярной диагностики наследственной болезни, то ДНК выделяется и хранится при температуре -80°C или с согласия пациента отправляется в Федеральную лабораторию молекулярной диагностики.

При медико-генетическом консультировании семей с наследственной глухотой возникает также и другая проблема – отсутствие тесного взаимодействия оториноларингологов, сурдологов и генетиков, в связи с этим создание четкой системы взаимодействия между специалистами в отношении профилактики наследственных форм нарушений слуха является основным вопросом при медико-генетическом консультировании [15].

Создание генетического компьютеризированного регистра в профилактике наследственных заболеваний заключается в определении вероятных носителей гена, подлежащих медико-генетическому консультированию и ДНК-диагностике, поскольку позволяет эффективно формировать группу риска путем «сканирования» семей. С помощью генетического регистра оценивается генетический риск для каждого из наблюдаемых лиц, на основе которого вырабатывается индивидуальная тактика ведения семей с определением прогноза для потомства. В целом генетический регистр должен способствовать снижению заболеваемости наследственными болезнями в регионе и «контролю» над заболеванием в целом [16].

Таким образом, для профилактики и снижения наследственной глухоты в регионе необходимо проанализировать проводимое в настоящее время медико-генетическое консультирование семей с наследственной несиндромальной глухотой в регионе и разработать рекомендации для дальнейшей работы.

Цель настоящего исследования: разработка научно обоснованных предложений по подготовке региональных методов диагностики и профилактики несиндромальной глухоты/тугоухости, а также по повышению уровня доступности медико-генетической помощи населению Якутии.

Материалы и методы исследования

Проведен анализ родословных и клинического материала больных и семей, состоящих на учете в Республиканском генетическом регистре наследственной и врожденной патологии медико-генетического центра ГАУ РС (Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины» с диагнозом *наследственная нейросенсорная глухота/тугоухость 2-й-4-й степени*.

Материалом для молекулярного исследования на самую частую мутацию для якутской популяции с.-23+1G>A в гене *GJB2* послужили образцы геномной ДНК лейкоцитов периферической крови индивидов (n=45) с диагнозом *наследственная нейросенсорная глухота/тугоухость 2-4-й степени*. Информированное добровольное согласие на проведение генетического исследования было получено от каждого участника исследования (если ребенок – от родителя). Забор периферической крови (9 мл) проводился в вакуумную пробирку VACUETTE, содержащую в качестве антикоагулянта K₃-EDTA («Greiner Bio-One», Австрия). Выделение ДНК из периферической крови было проведено с помощью метода фенол-хлороформной экстракции [17].

Проведение амплификации и флуоресцентной детекции проводилось в амплификаторе CFX96 (BioRad, США) в реакционной смеси объемом 10 мкл согласно протоколу фирмы-производителя (ООО «ТестГен», Россия). Условия термоциклирования ПЦР были следующие: 96°C – 2 мин, 95°C – 30 с, 62°C – 1 мин, 70°C – 20 с, 40 циклов, 72°C – 2 мин. Соответствие флуоресцентных красителей: аллель Т – канал FAM, аллель С – канал VIC.

Статистический анализ определения типа наследования был проведен с помощью критерия χ^2 (df=1) с поправкой Йетса. Расчёт проводился с использованием статистических калькуляторов OpenEpi [<http://www.openepi.com>].

Результаты. На учете в Республиканском генетическом регистре с 01.01.2004 по 01.09.2017 гг. состоят всего 78 больных с диагнозом *несиндромальная глухота* или *тугоухость*, которые лично обратились в медико-генетический центр ГАУ РС (Я) «РБ№ 1-НЦМ». Учитывая генетический полиморфизм глухоты, при медико-генетическом консультировании больные были условно разделены на больных с нейросенсорной тугоухостью с аутосомно-рецессивным типом наследования (28 чел.) и больных с наследственной доминантной нейросенсорной тугоухостью (50 чел.).

Из 78 больных 38 чел. были из г. Якутска, 40 – из районов республики. По этнической принадлежности больные распределились следующим образом: якуты – 66 (84,62 %), русские – 3 (3,85), украинцы – 1 (1,28), метисы – 5 (6,41), эвенки – 2 (2,56), осетины – 1 (1,28 %).

Из 78 больных 10 прошли молекулярно-генетическую диагностику на выявление мутации (ДНК-анализ) в других лабораториях России (табл. 1).

Таблица 1

Результаты молекулярно-генетического тестирования больных с несиндромальной глухотой до 2017 года, проведенного в других лабораториях России

№	Больной, национальность	Возраст, лет	Место жительства	Выявленная мутация	Гомозигота/гетерозигота
1	Б., якут	35	Якутск	с.-23+1G>A/с.-23+1G>A	гомозигота
2	Б., русск	14	Якутск	35delG /35delG	гомозигота
3	В., якут	16	Усть-Алданский	с.-23+1G>A/с.-23+1G>A	гомозигота
4	П., якут	10	Якутск	с.-23+1G>A/с.-23+1G>A	гомозигота
5	П., якут	24	Якутск	с.-23+1G>A/с.-23+1G>A	гомозигота
6	Ч., якут	2	Якутск	с.-23+1G>A/с.-23+1G>A	гомозигота
7	Г., якут	19	Чурапчинский	с.-23+1G>A/с.-23+1G>A	гомозигота
8	Д., русск	27	Якутск	с.-23+1G>A/не известна	гетерозигота
9	К., якут/укр	42	Якутск	с.-23+1G>A/не известна	гетерозигота
10	К., якут/украинец	23	Якутск	35delG / не известна	гетерозигота

Больные № 1, 3, 4, 6 с двусторонней несиндромальной глухотой по этнической принадлежности были якуты. Родители всех этих больных – слышащие. Больной № 7 с несиндромальной глухотой 4-й степени родился от ассортативного брака (оба родителя с глухотой). Мать больного глухонемая, не проходила ДНК-тестирование. Отец неизвестен, ДНК нет.

Больная № 9 (мать якутка, отец украинец) является гетерозиготной по мутации с.-23+1G>A в гене *GJB2*, родила сына с несиндромальной тугоухостью 3–4-й степени (№ 10), гетерозиготного по мутации *35delG*. Сыну и матери необходимо провести дальнейшее ДНК-тестирование по обеим мутациям. Возможно, они являются компаунд гетерозиготами по этим 2 или другим мутациям, если отец является носителем другой мутации по глухоте.

Следующим этапом исследования было проведение молекулярно-генетического анализа на самую частую мутацию для якутской популяции с.-23+1G>A в гене *GJB2*. Из 68 больных 20 не сдали кровь на ДНК, 3 ДНК не были пригодны для анализа, т.е. на исследование частой у якутов мутации с.-23+1G>A в гене *GJB2* было взято 45 ДНК.

В результате генотипирования ДНК 45 больных были разделены на 2 группы: 1-я – 29 больных (64,44 %), из которых у 24 выявлена мутация с.-23+1G>A в гене *GJB2* в гомозиготном состоянии, у 5 – в гетерозиготном; 2-я группа – 16 больных (35,66 %), у которых не выявлена исследуемая частая мутация.

При анализе родословных выявлено, что носители мутации (29 чел. из 1-й группы) принадлежат к 22 неродственным семьям. Всего больных глухотой/тугоухостью в этих семьях 90 чел., из которых 24 гомозиготы и 5 гетерозиготы, остальные 61 (67,77 %) остаются нетестированными, т.к. не обращались за медико-генетическим консультированием и не сдавали анализы. Всего эти 22 родословные (1-я группа) охватывают 306 чел., семьи состоят из 4-6, а самые большие – 24 чел. из 2-4 поколений.

При дальнейшем анализе в 1-й группе была выделена подгруппа 1а, куда включили 10 семей, где оба родителя слышащие. Из этих семей в 2 семьях по 2 ребенка глухие, в 8 семьях – по 1, все дети являются гомозиготными по анализируемой мутации. Слышащие родители не были тестированы, не сдавали кровь на анализ ДНК.

Вторая подгруппа 1б – это 8 семей с ассортативными браками, где оба родителя являются глухими или слабослышащими. Из этих семей у 5 детей выявлена исследуемая мутация в гомозиготном состоянии, у 2 детей – в гетерозиготном, и 1 ребенок не обследован (глухой). В данной группе еще 3 гетерозиготных больных по исследуемой мутации – это мать и отцы с нарушением слуха. 2 семьи из них русские, остальные якуты.

Третья подгруппа 1в – это 4 семьи. В одной семье мать слышащая, а отец и тетя по отцу глухонемые (гомозиготные по исследуемой мутации), но ребенок не обследован (глухой), во второй семье – мать глухонемая (гетерозигота) и 2 слышащих ребенка, третья и четвертая семьи (один супруг гомозигота) без детей, обратились в медико-генетический центр за прогнозом потомства.

При анализе 2-й группы без мажорной для якутов мутации с.-23+1G>A в гене *GJB2* было всего 16 больных из 13 неродственных семей. В этих семьях 59 больных глухотой и 170 родственников.

По родителям вторая группа разделилась на три подгруппы.

Первая подгруппа 2а – 7 семей, где один из родителей слышит, второй глухой, имеют 8 глухих детей, по родословной – 39 больных и 63 здоровых.

2б подгруппа – 3 семьи, оба родителя слышащие, 3 глухих детей с отрицательным результатом анализа на мутацию, всего 5 больных по родословной;

2в подгруппа – 3 семьи, в которых оба родителя глухие (ассортативные браки), имеют 4 глухих детей и всего 15 больных. Все результаты анализа на мажорную мутацию – отрицательные. По этнической принадлежности 13 больных – якуты, 2 русских и 1 эвек.

Был проведен статистический анализ 1а и 2а групп больных на соответствие АД и АР типам наследования (табл. 2).

Таблица 2

Анализ больных с несиндромальной глухотой на соответствие аутосомно-доминантному (АД) типу наследования

Количество семей	Пациенты	Общее количество		Критерий χ^2 (df=1)	Результат
		больных	здоровых		
1а подгруппа (n=10)	Наблюдаемое	36	130	$\chi^2=27,72, p<0,0001$	Противоречит гипотезе об АД типе наследования
	Ожидаемое	83	83		
2а подгруппа (n=7)	Наблюдаемое	39	63	$\chi^2=2,40, p=0,1209$	Не противоречит гипотезе об АД типе наследования
	Ожидаемое	51	51		

При анализе типа наследования выявлено, что в 1-й группе подгруппа 1а из 10 семей со слышащими родителями и 11 гомозиготными детьми имеет в родословной всего 36 больных и 130 здоровых родственников. Данная группа по типу наследования характерна для аутосомно-рецессивного типа наследования: родители пробанда здоровы, но аналогичное заболевание встречается у родных, двоюродных и троюродных сибсов; горизонтальный характер распределения в родословной – поражение одного поколения; оба пола поражаются с одинаковой частотой и тяжестью. Выявление мутации с.-23+1G>A (IVS1+1G>A) в гене *GJB2* в гомозиготном состоянии подтверждает, что около 53,33 % глухоты у якутов обусловлено данной мутацией при медико-генетическом консультировании.

Во 2-й группе, в которой не была найдена мутация, в подгруппе 2а, где один родитель слышащий, второй глухой, всего 7 семей (по национальности 1 эвенк и 6 якутов), имеют 8 глухих детей. В роду данных семей 39 больных и 63 здоровых родственника. Данная группа по типу передачи заболевания похожа на аутосомно-доминантный тип наследования: заболевание передается из поколения в поколение, т.е. прослеживается в родословной по вертикали и отмечается поражение многих поколений. Глухота с одинаковой частотой и тяжестью встречается как у мужчин, так и у женщин; доля больных детей составляет около 50 %, если болен один из родителей; здоровые члены в семье, как правило, имеют здоровых потомков.

Таким образом, больные из 1а группы не могут соответствовать аутосомно-доминантному типу глухоты, а 2а группа больных могут иметь аутосомно-доминантный тип глухоты. Исходя из этого, возможен поиск мутации по глухоте с аутосомно-доминантным типом наследования в ДНК больных якутов в перспективе (табл. 2).

Для больных с моногенной патологией в Якутии с 2000 г. на бюджетной основе (бесплатно) проводится инвазивная пренатальная (дородовая) диагностика (ИПД). Показаниями для проведения ИПД является высокий риск рождения плода с хромосомной, моногенной патологией [18]. В качестве примера ИПД с целью профилактики наследственной патологии приводим клинический пример из практики медико-генетического консультирования семей с наследственной врожденной глухотой.

Клинический случай. Консультирующаяся Г., 1984 г.р., жительница г. Якутска, якутка, образование высшее, обратилась в медико-генетический центр ГАУ РС (Я) «РБ№ 1-НЦМ» с направительным диагнозом: Беременность 7 недель. Осложненный гинекологический анамнез. Диффузный зоб 1-й степени. Миопия 3-й степени. Носительство мутации с.-23+1G>A в гене *GJB2*.

Из анамнеза: Замужем, первый брак, мужу 30 лет, якут, здоров. От I беременности в срок родился ребенок массой тела 3800 г, длиной 53 см, с диагнозом: врожденная глухота. Беременность II закончилась медицинским абортom, беременность III – настоящая, на учете по беременности с 5 недель. Фенотип женщины без особенностей, слух в норме.

Заключение по генеалогическому анамнезу: отягощенность по сенсоневральной тугоухости. Ранее семья была консультирована в Российском научно-практическом центре аудиологии и слухопротезирования, молекулярная диагностика у сына и родителей на несколько частых мутаций проведена в Центре молекулярной генетики (Москва). Выявлена мутация с.-23+1G>A в гене *GJB2*, у обоих родителей в гетерозиготном состоянии, у сына – гомозиготном. Генетический риск 25 % у плода при каждой беременности. При следующей беременности рекомендовано ИПД.

Диагноз: Беременность 7-8 нед. Осложненный анамнез по наследственной патологии. Риск по сенсоневральной тугоухости 25 %.

Рекомендована ИПД с последующей ДНК-диагностикой по материалу хориона в Центре молекулярной генетики (Москва).

На сроке 10 недель была проведена трансабдоминальная биопсия хориона в МГЦ в г. Якутске, материал плода, кровь матери и пробанда отправлены в г. Москва. По результатам ДНК-анализа у матери подтверждено гетерозиготное носительство мутации с.-23+1G>A, у пробанда – гомозиготное, у плода обнаружена мутация с.-23+1G>A (*IVS1+1G>A*) в гомозиготном состоянии, т.е. установлен диагноз нейросенсорной несиндромальной тугоухости 1А типа. По решению семьи и медицинским показаниям беременность прервана при сроке 11 недель.

Обсуждение. Анализ состоящих на учете в медико-генетическом центре ГАУ РС (Я) «РБ1-НЦМ» семей показал, что количество больных с нарушением слуха составляет 78 чел. с нейросенсорной наследственной глухотой.

При проведении молекулярно-генетического анализа на частую мутацию с.-23+1G>A (*IVS1+1G>A*) в гене *GJB2* из 45 больных выявлено 24 с гомозиготной формой мутации (53,33 %), 5 – с гетерозиготной формой (11,11) и 16 чел. без данной мутации (35,55 %). Количество ассортативных браков составило 31,42 % из 35 родословных.

При анализе больные были распределены на группы (по результатам молекулярно-генетического анализа) и подгруппы (слышащие родители, родители с нарушением слуха и семьи не дообследованные).

Был проведен статистический анализ 1а и 2а групп больных на соответствие аутосомно-доминантному и аутосомно-рецессивному типам наследования (табл. 2). Больные из 1а группы не могут соответствовать АД типу глухоты, а из 2а группы – могут иметь АД тип глухоты. Исходя из этого, возможен поиск мутации по глухоте с аутосомно-доминантным типом наследования в ДНК больных якутов в перспективе.

Подгруппа 2б (родители оба слышат) – 3 семьи, в которых 3 детей глухих, не имеющих мажорной мутации, и всего 5 больных в родословной – также представляет интерес для дальнейшего исследования на мутацию с аутосомно-рецессивным типом наследования.

Таким образом, всего в Генетическом регистре наследственной и врожденной патологии РС (Я), по результатам данного исследования, в 35 родословных имеется 140 больных с глухотой, из них 45 (32,14 %) прошли ДНК-диагностику и у 24 (53,33 %) больных найдена гомозиготная мутация, уточнена причина глухоты. С этими семьями можно продолжить медико-генетическое консультирование, определить прогноз потомства, проводить профилактические мероприятия.

Выводы:

1. Наследственная несиндромальная нейросенсорная глухота 1А типа с аутосомно-рецессивным типом наследования у якутов получила высокое накопление в республике.
2. Среди больных с глухотой выявлен высокий уровень ассортативных браков (31,42 %), что еще больше способствует усилению степени глухоты и увеличивает частоту глухоты и сложность диагностики и профилактики болезни в семье.
3. Количество обращений больных с глухотой/тугоухостью в МГЦ в настоящее время находится на недостаточном уровне: с 2004 по 2017 г. направлено всего 78 больных.
4. Около половины больных с глухотой/тугоухостью с наследственной отягощенностью коренной национальности не относятся к носителям частой мутации, таким образом, необходимо проводить дальнейший поиск мутаций в других генах.

Рекомендации по организации мероприятий для профилактики наследственной глухоты:

1. Сурдологической службе республики необходимо разработать эффективную маршрутизацию больных с наследственной глухотой для проведения медико-генетического консультирования; предусмотреть возможность ранней ДНК-диагностики в рамках аудиологического скрининга новорожденных.

2. Медико-генетической службе республики внедрить ДНК-тестирование на частую этноспецифическую мутацию, расширить прием семей с наследственной глухотой, усилить работу по профилактике заболевания, в том числе выявление гетерозиготных носителей в рамках молекулярного скрининга.

3. В связи с развитием новых технологий ДНК-диагностики, разработать мероприятия по поиску и идентификации частых и редких мутаций при нарушениях слуха с использованием полногеномного секвенирования, с целью последующего внедрения молекулярной диагностики в практическую медицину.

4. Разработать информационные брошюры для больных с глухотой по профилактике заболевания в семье и для населения.

Работа выполнена в рамках НИР «Многофакторное исследование состояния здоровья коренного и пришлого населения РС (Я) с целью оптимизации региональных программ по улучшению качества жизни жителей республики с учетом территориальных, этнических особенностей в условиях современного социально-экономического развития» Программы комплексных научных исследований в Республике Саха (Якутия), направленных на развитие ее производительных сил и социальной сферы на 2016-2020 годы».

Литература

1. Smith R.J., Bale J. Sensorineural hearing loss in children / R.J. Smith, J. Bale // Lancet. – 2005. – Vol. 365. – P. 879-90.
2. Bitner-Glindzicz, M. Hereditary deafness and phenotyping in humans / M. Bitner-Glindzicz // British Med. Bulletin. – 2002. – Vol. 63 – P. 73-94.
3. Электронный ресурс. Режим доступа: <http://hereditaryhearingloss.org/>; обновлен в январе 2018 года.
4. Mueller, R.F., Nehammer, A. Congenital non-syndromal sensorineural hearing impairment due to connexin 26 gene mutations- molecular and audiological findings / R.F. Mueller, A. Nehammer // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. – 1999. – Vol. 50 (1) – P. 3-13.
5. Park, H.J., Hahn, S. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss / H.J. Park, S. Hahn // Laryngoscope. – 2000. – Vol. 110. – P. 1535-1538.
6. Abe, S., Usami, S. Prevalent Connexin 26 gene (*GJB2*) mutation in Japanese / S. Abe, S. Usami // J. Med. Genet. – 2000. – Vol. 37 (1) – P. 41-43.
7. Chen, Yu, Zhang, Hua. Genetic Mutations in Non-syndromic deafness patients of Uyghur and Han Chinese ethnicities in Xinjiang, China: A comparative study / Yu Chen, Hua Zhang // J. Translational. med. – 2011. – Vol. 9. – P. 154.
8. Padma, G. *GJB2* and *GJB6* gene mutations found in Indian probands with congenital hearing impairment / G. Padma, P. V. Ramchander, U.V. Nandur et al. // J. Genet. – 2009. – № 88. – P. 267-272.
9. Барашков, Н.А. Мутация сайта сплайсинга *q.-3179 (IVS1+1G>A)* гена *GJB2* – основная причина наследственной несиндромальной аутосомно-рецессивной глухоты у якутов / Н.А. Барашков, Л.У. Джемилева, С.А. Федорова и др. // Медицинская генетика. – 2010. – № 7 (97). – С. 22-33.
10. Barashkov, N. Age-Related Hearing Impairment (ARHI) Associated with *GJB2* Single Mutation IVS1+1G. A in the Yakut Population Isolate in Eastern Siberia / N. Barashkov, F. Teryutin, V. Pshennikova et al. // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9 – P. 100848.
11. Соловьев, А.В. Реконструкция SNP-гаплотипов с мутацией *c.-23+1G>A* гена *GJB2* человека в некоторых популяциях Евразии / А.В. Соловьев, Н.А. Барашков, М.С. Бады-Хоо и др. // Генетика. – 2017. – № 8. – С. 988-993.
12. Пшенникова, В.Г. Поиск мутаций в генах *GJB6(Cx30)* и *GJB3(Cx31)* у глухих пациентов с моноаллельными мутациями / В.Г. Пшенникова, Н.А. Барашков, А.В. Соловьев и др. // Генетика. – 2017. – № 6. – С. 705-715.
13. Терютин, Ф.М. Аудиологический анализ у пациентов с потерей слуха, гомозиготных по мутации *c.-23+1G>A* гена *GJB2* в Якутии / Ф.М. Терютин, Н.А. Барашков, Н.А. Кунельская и др. // Вестник отоларингологии. – 2016. – № 1. – С.19-24.

14. Терютин, Ф.М. Коклеарная имплантация у ребенка с врожденной сенсоневральной глухотой, обусловленной мутацией 35delG в гене *GJB2* (коннексин 26) / Ф.М. Терютин, Н.А. Барашков и др. // Вестник отоларингологии. – 2009. – № 2. – С.17-19.
15. Маркова, Т.Г. Клинико-генетический анализ врожденной и доречевой тугоухости: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Т.Г. Маркова. М., 2008. 26 с.
16. Мурзабаева, С.Ш. Оптимизация медико-генетической службы Республики Башкортостан: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С.Ш. Мурзабаева. М., 2010. 25 с.
17. Mathew, C. C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / C. C. Mathew // *Methods in Molecular Biology*. Human Press. – 1984. – Vol. 2. – P. 31–34.
18. Готовцева, Л.В. Пренатальная диагностика в Республике Саха (Якутия) / Л.В. Готовцева, А.Л. Сухомясова, Т.Ю. Павлова // Генетические исследования населения Якутии. Якутск, 2014. С. 245-259.

References

1. Smith R.J., Bale J. Sensorineural hearing loss in children / R.J. Smith, J. Bale // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365. – P. 879-90.
2. Bitner-Glindzicz, M. Hereditary deafness and phenotyping in humans / M. Bitner-Glindzicz // *British Med. Bulletin*. – 2002. – Vol. 63 – P. 73-94.
3. EHlektronnyj resurs. Rezhim dostupa: <http://hereditaryhearingloss.org/> / obnovlen v yanvare 2018 goda.
4. Mueller, R.F., Nehammer, A. Congenital non-syndromal sensorineural hearing impairment due to connexin 26 gene mutations- molecular and audiological findings / R.F. Mueller, A. Nehammer // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 1999. – Vol. 50 (1) – P. 3-13.
5. Park, H.J., Hahn, S. Connexin 26 mutations associated with nonsyndromic hearing loss / H.J. Park, S. Hahn // *Laryngoscope*. – 2000. – Vol. 110. – P.1535-1538.
6. Abe, S., Usami, S. Prevalent Connexin 26 gene (*GJB2*) mutation in Japanese / S. Abe, S. Usami // *J. Med. Genet.* – 2000. – Vol. 37 (1) – P.41-43.
7. Chen, Yu, Zhang, Hua. Genetic Mutations in Non-syndromic deafness patients of Uyghur and Han Chinese ethnicities in Xinjiang, China: A comparative study / Yu Chen, Hua Zhang // *J. Translational. med.* – 2011. – Vol. 9. – P.154.
8. Padma, G. *GJB2* and *GJB6* gene mutations found in Indian probands with congenital hearing impairment / G. Padma, P. V. Ramchander, U.V. Nandur et al. // *J. Genet.* – 2009. – № 88. – P. 267-272.
9. Barashkov, N.A. Mutaciya sajta splajsinga q.-3179 (*IVS1+1G>A*) gena *GJB2* – osnovnaya pricina nasledstvennoj nesindromal'noj autosomno-recessivnoj gluhoty u yakutov / N.A. Barashkov, L.U. Dzhemileva, S.A. Fedorova i dr. // *Medicinskaya genetika*. – 2010. – № 7 (97). – S. 22-33.
10. Barashkov, N. Age-Related Hearing Impairment (ARHI) Associated with *GJB2* Single Mutation *IVS1+1G. A* in the Yakut Population Isolate in Eastern Siberia / N. Barashkov, F. Teryutin, V. Pshennikova et al. // *PLOS ONE*. – 2014. – Vol. 9 – P. 100848.
11. Solov'ev, A.V. Rekonstrukciya SNP-gapplotipov s mutaciej s.-23+1G>A gena *GJB2* cheloveka v nekotoryh populyacijah Evrazii / A.V. Solov'ev, N.A. Barashkov, M.S. Bady-Hoo i dr. // *Genetika*. – 2017. – № 8. – С. 988-993.
12. Pshennikova, V.G. Poisk mutacij v genah *GJB6*(Cx30) i *GJB3*(Cx31) u gluhih pacientov s monoallel'nymi mutacijami / V.G. Pshennikova, N.A. Barashkov, A.V. Solov'ev i dr. // *Genetika*. – 2017. – № 6. – С. 705-715.
13. Teryutin, F.M. Audiologičeskij analiz u pacientov s poterej sluha, gomozigotnyh po mutacii s.-23+1G>A gena *GJB2* v YAkutii / F.M. Teryutin, N.A. Barashkov, N.A. Kunel'skaya i dr. // *Vestnik otolaringologii*. – 2016. – № 1. – S.19-24.
14. Teryutin, F.M. Kohlearnaya implantaciya u rebenka s vrozhdennoj senseonevral'noj gluhotoj, obuslovennoj mutaciej 35delG v gene *GJB2* (konneksin 26) / F.M. Teryutin, N.A. Barashkov i dr. // *Vestnik otolaringologii*. – 2009. – № 2. – S.17-19.
15. Markova, T.G. Kliniko-genetičeskij analiz vrozhdennoj i dorechevoj tuguhosti: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / T.G. Markova. М., 2008. 26 с.
16. Murzabaeva, S.SH. Optimizaciya mediko-genetičeskoj sluzhby Respubliki Bashkortostan: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk / S.SH. Murzabaeva. М., 2010. 25 с.
17. Mathew, C. C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / C. C. Mathew // *Methods in Molecular Biology*. Human Press. – 1984. – Vol. 2. – P. 31–34.
18. Gotovceva, L.V. Prenatal'naya diagnostika v Respublike Saha (YAkutiya) / L.V. Gotovceva, A.L. Suhomyasova, T.YU. Pavlova // *Geneticheskie issledovaniya naseleniya YAkutii*. – YAkutsk, 2014. – S. 245-259.