

Анализ родословных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью при ассортативных браках

Петрина Н.Е.¹, Зинченко Р.А.^{1,2}, Ижевская В.Л.¹, Марахонов А.В.^{1,3},
Близнец Е.А.¹, Петрова Н.В.¹, Васильева Т.А.¹, Поляков А.В.¹, Гинтер Е.К.^{1,4}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, e-mail: renazinchenko@mail.ru

² ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: renazinchenko@mail.ru

³ ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный,
e-mail: marakhonov@generesearch.ru

⁴ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: ekginter@mail.ru

Несиндромальная нейросенсорная тугоухость (ННТ) — наследственная потеря слуха без других патологических симптомов (изолированная), вызванная поражением звуковоспринимающего аппарата. ННТ генетически гетерогенна, но в среднем около 50% случаев аутосомно-рецессивной ННТ вызвано мутациями в гене *GJB2*. Браки между слабослышащими людьми являются привычным явлением в современном обществе, и количество таких браков с каждым годом только увеличивается. При этом показано, что возрастает интерес к генетическому тестированию пар, состоящих в ассортативных по глухоте браках. На примере двух родословных, в которых наблюдалось несколько ассортативных браков, анализируются проблемы медико-генетического консультирования пациентов с тугоухостью с учетом возможностей подтверждающей ДНК-диагностики. Продемонстрировано значение молекулярно-генетического обследования для уточнения причины заболевания и определения генетического риска при разных типах браков.

Ключевые слова: несиндромальная нейросенсорная тугоухость, ген *GJB2*, медико-генетическое консультирование, ассортативность.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ 17-04-00288.

Analysis of pedigrees with a non-syndromic sensorineural hearing loss in assortative marriages

Petrina N.E.¹, Zinchenko R.A.^{1,2}, Izhevskaya V.L.¹, Marakhonov A.V.^{1,3},
Bliznetz E.A.¹, Petrova N.A.¹, Vasilyeva T.A.¹, Polyakov A.V.¹, Ginter E.K.^{1,4}

¹ Federal state scientific budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics» Moscow, e-mail: renazinchenko@mail.ru

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, e-mail: renazinchenko@mail.ru

³ Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, e-mail: marakhonov@generesearch.ru

⁴ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, e-mail: ekginter@mail.ru

Nonsyndromic sensorineural hearing loss (NSHL) is a hereditary hearing impairment without other pathological symptoms (isolated), caused by damage to the sound-perceiving apparatus. NSHL is genetically heterogeneous, but on average, about 50% of cases of autosomal recessive NSHL is caused by mutations in the *GJB2* gene. Marriages between hard-of-hearing people are a common occurrence in modern society, and the number of such marriages is increasing every year. At the same time, a growing interest in genetic testing was shown in couples consisting of assortative deaf marriages. On the example of two pedigrees, in which several assortative marriages were observed, the problems of medical genetic counseling of patients with hearing loss are analyzed taking into account the possibilities of confirmatory DNA diagnosis. The importance of molecular genetic examination for clarifying the form of the disease and determining the genetic risk for different types of marriages is demonstrated.

Keywords: nonsyndromic sensorineural hearing loss, *GJB2* gene, medical genetic counseling, assortativeness.

Несиндромальная нейросенсорная тугоухость (ННТ) — наследственная потеря слуха без других патологических симптомов (изолированная), вызванная поражением звуковоспринимающего аппарата. Частота врожденных нарушений слуха очень высока и составляет 1 на 500 новорожденных [1]. К пяти годам распространенность нейросенсорной потери слуха увеличиваться до 2,7 на 1000 детей, а к подростковому возрасту уже составляет 3,5 на 1000 [2].

ННТ — заболевание с доказанной генетической гетерогенностью. В настоящее время известно более 140 генетических локусов и несколько десятков генов, ассоциированных с изолированной тугоухостью. Аутосомно-рецессивные (АР) формы составляют примерно 70–80% всей ННТ, аутосомно-доминантные — 10–20%, X-сцепленные и митохондриальные 1–2% [3]. Одни и те же гены могут быть причиной как АД, так и АР тугоухости.

В среднем около 50% случаев АР ННТ вызвано мутациями в гене *GJB2* [4], находящемся в локусе DFNB1. На сегодняшний день зарегистрировано около 400 аллельных вариантов этого гена, приводящих к АР ННТ [5]. Высокая частота мутаций в гене *GJB2* в европейских популяциях и частое заключение браков между глухими людьми приводят к тому, что родословные часто имитируют АД тип наследования с вертикальной передачей признака, вместо характерной для АР наследования горизонтальной передачи. Браки между слабослышащими людьми являются привычным явлением в современном обществе, и количество таких браков с каждым годом только увеличивается. Социальная изоляция слабослышащих и глухих людей рядом авторов объясняется распространением специализированных школ для глухих/тугоухих и внедрением «языка жестов». Эти факторы способствовали тому, что в течение последних 200 лет частота *GJB2*-ассоциированных нарушений слуха в США удвоилась [2, 6]. Проведенное компьютерное моделирование показало, что увеличение частоты тугоухости, обусловленной мутациями гена *GJB2*, будет продолжаться, а положительная брачная ассортативность «симулирует» ситуацию кровного родства [7].

Разными авторами было показано, что за медико-генетическим консультированием и генетическим тестированием обычно обращаются слышащие родители больного ребенка, тогда как глухими родителями медико-генетическое обследование не всегда расценивается как полезное [8, 9]. Однако по мере расширения программ скрининга новорожденных на нарушения слуха как слышащие, так и глухие родители чаще признают полезность генетического тестирования [10]. Возрастающий интерес к генетическому тестированию пар, состоящих в ассортативных по глухоте браках, свидетельствует о том, что число их обращений в медико-генетическую консультацию может увеличиться.

В процессе генетико-эпидемиологического обследования населения Карачаево-Черкесской Республики (КЧР) выявлено несколько семей, в которых оба родителя были тугоухие или глухие. Наиболее интересными оказались две родословные, демонстрирующие необходимость проведения подтверждающей ДНК-диагности-

ки для корректной оценки генетического риска при медико-генетическом консультировании (рис. 1, 2).

В первой родословной (рис. 1) было 8 человек в двух поколениях с врожденными нарушениями слуха разной степени (пациенты II1, II4, II5, II8, II9, III3, III4, III5), четверым из них (II4, II5, III3, III4) проведен поиск мутаций в гене *GJB2* в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ».

ДНК-диагностика выполнена в три последовательных этапа. На первом этапе осуществлен поиск частой мутации с.35delG в кодирующем экзоне 2 гена *GJB2*. Мутация обнаружена на одной хромосоме у трех членов семьи — пробанда (III3), его матери и отца (II4, II5). У сестры пробанда (III4) мутация с.35delG не была выявлена. На втором этапе исследования проведено секвенирование последовательности кодирующего экзона 2 гена *GJB2*, в результате которого удалось выявить мутацию с.[358_360delGAG] у пробанда (III3), его матери (II4) и сестры (III4). Таким образом, установлен генотип пробанда (III3) и его матери (II4) (с.[35delG];[358_360delGAG] у обоих), а у отца (II5; генотип с.[35delG]/?) и сестры пробанда (III4; генотип с.[358_360delGAG]/?) второй патологический аллель не удалось идентифицировать.

На третьем этапе методом ПДРФ-анализа проведен поиск мутации сайта сплайсинга с.-23+1G>A (IVS1+1G>A) в интроне 1 гена *GJB2*, характерной для популяций Монголии, но частой и у российских пациентов, в особенности якутов [1, 11, 12]. Эта мутация найдена у отца (II5) и сестры (III4) пробанда.

В итоге у всех пациентов данной ядерной семьи определены по две патогенные мутации в гене *GJB2*, которые явились причиной АР ННТ. Выявлено 3 разных генотипа (таблица).

Сравнивая клинику заболевания у обследованных пациентов, мы отмечаем, что носители мутации с.35delG имеют более тяжелые проявления заболевания, что согласуется с ранее опубликованными статистически значимыми корреляциями между типом мутации в гене *GJB2* и степенью нарушения слуха [13, 14]. Сестра пробанда с генотипом с.[358_360delGAG];[-23+1G>A] имеет слабо выраженную тугоухость, девочка учится в общеобразовательной школе.

С учетом того, что оба супруга страдают АР ННТ и имеют мутации в одном и том же гене, риск повторения заболевания у потомков данной супружеской пары (II4, II5) составляет 100%. При определении вероятности рождения больных детей у потомков этой супружеской пары (пробанда III3 и его сестер III4 и III5), а также у брата матери (II1) следует рассматривать несколько возможных вариантов в зависимости от того, болен будущий супруг или здоров, и результатов его молекулярно-генетического обследования.

Если будущий супруг здоров, то при расчете генетического риска следует исходить из следующего:

1. Будущему супругу проведено молекулярно-генетическое исследование, в результате которого установлено, что он не является гетерозиготным носителем мута-

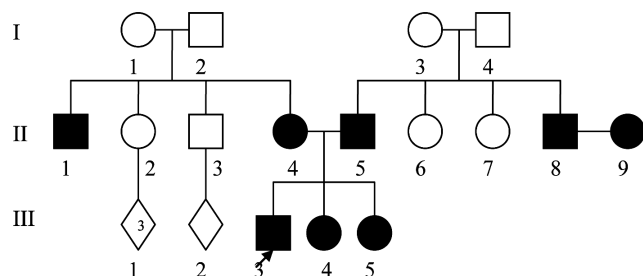


Рис. 1. Родословная семьи X с нейросенсорной тугоухостью (II1, II4, II5, II8, II9, III3, III4, III5 — глухие/тугоухие с рождения). Больные II4, II5, III3, III4, которым проведена ДНК-диагностика, — компаунд-гетерозиготы по мутациям в гене *GJB2*. Здоровым членам семьи аудиологического обследования и ДНК-диагностики проведено не было, здоровы со слов родственников.

Таблица

Генотипы обследованных пациентов из семьи X

Обследуемые	Генотипы	Фенотипы
Пробанд III3	с.[35delG];[358_360delGAG]	Тугоухость 4 ст.
Сибс III4	с.[358_360delGAG];[-23+1G>A]	Тугоухость 2 ст.
Мать II4	с.[35delG];[358_360delGAG]	Тугоухость 4 ст.
Отец II5	с.[35delG];[-23+1G>A]	Глухонемой

ций в гене *GJB2*, или что он является гетерозиготным носителем мутаций в других генах, приводящих к рецессивным формам глухоты. Таким образом, врач-генетик имеет дело с браком компаундной гетерозиготы по мутациям в гене *GJB2* с гомозиготой по нормальному аллелю. В этом случае все дети будут здоровыми гетерозиготными носителями мутации в гене *GJB2*.

2. В результате обследования будущего супруга установлено, что он является гетерозиготным носителем мутации в гене *GJB2* (брак компаундной гетерозиготы по патологическим аллелям и гетерозиготы по мутациям в гене *GJB2*). В таком браке больны будут 50% детей, а 50% будут гетерозиготными носителями.

3. Будущий супруг не обследован, т.е. имеет место брак компаундной гетерозиготы по рецессивным аллелям с человеком, чей генотип неизвестен. При расчете риска в таком случае следует учитывать частоту гетерозиготного носительства мутации в гене *GJB2* в популяции, из которой происходит супруг. Риск заболевания для потомков такого брака с учетом полученных данных равен популяционной частоте гетерозигот, умноженной на 0,5. Ранее были получены данные о частоте гетерозигот по мутации c.35delG в гене *GJB2* у представителей разных народов КЧР и вкладе этой мутации в развитие АР ННТ в республике [15]. Учитывая эти данные можно получить оценку риска АР ННТ у потомков такого брака.

Если будущий супруг болен, то следует учесть следующие обстоятельства:

1. В результате обследования у него выявлена АР ННТ, связанная с мутациями в гене *GJB2*. Риск для потомков такого брака равен 100%

2. Будущий супруг болен АР ННТ, но его заболевание не связано с мутациями в гене *GJB2*, обнаружены мутации в другом локусе. Учитывая, что до настоящего времени нет доказательств дигенного наследования тугоухости, все дети от такого брака будут здоровыми гетерозиготными носителями мутаций в обоих генах, вызывающих заболевание у родителей.

3. Если у будущего супруга АД ННТ, то риск АД глухоты у потомков составляет 50%, и все они будут гетерозиготными носителями рецессивной мутации в гене *GJB2*.

4. Если генотип будущего супруга, имеющего ННТ, неизвестен, то при расчете риска следует учитывать соотношение разных форм глухоты в изучаемой популяции. В КЧР выявлено 197 пациентов с глухотой и тугоухостью, из них 191 (97%) — с АР ННТ (из них почти половина случаев — 48,45% — обусловлена мутациями в гене *GJB2*) и 6

(3%) — АД ННТ. X-сцепленных и митохондриальных форм выявлено не было. Риск рождения больного ребенка составляет $(3 \times 0,5) + (48,5 \times 1) = 50\%$. [16].

Аналогичные рассуждения должны быть сделаны при расчете риска для супружеской пары П8 и П9, которые не были обследованы. Учитывая, что в обеих ядерных семьях П1-4 и П5-8 тугоухость ассоциирована с мутациями в гене *GJB2*, члены семей информированы о возможности ДНК-диагностики других членов семьи и будущих супругов и о дородовой диагностике глухоты.

Во второй родословной (рис. 2) ДНК-исследование проведено девяти пациентам с нарушением слуха в двух поколениях.

Проведенный молекулярно-генетический анализ трех больных членов первой ядерной семьи из этой родословной (родители П1 и П2 и их дети П2-4) доказал, что пациенты П2, П3, П4 являются гомозиготами по мутации с.35delG в гене *GJB2* (генотип с.[35delG];[35delG]). Это позволило подтвердить в этой семье диагноз АР ННТ, вызванной мутацией в гене *GJB2*. Родители П1 и П2 являются гетерозиготными носителями мутации с.35delG в гене *GJB2*, риск повторного рождения больного ребенка у них составляет 25%.

Во второй ядерной семье мать II2 и дочь III1 имеют генотип с.[35delG];[35delG], отец III не обследован — со слов жены здоров по слуху. При генотипе с.[35delG];[35delG] у III была бы тяжелая степень тугоухости [13, 14], следовательно, наиболее вероятно, что он является гетерозиготным носителем мутации с.35delG в гене *GJB2*, и повторный риск рождения больных детей в браке III(с.[35delG];[?]) и II2 (с.[35delG];[35delG]) составляет не менее 50%.

Вид родословной третьей ядерной семьи (родители I4 и I5, дети II5, II6 и II8) характерен для АР ННТ с повторным риском рождения больного ребенка в браке I4 и I5 с вероятностью 25%, однако при молекулярно-гене-

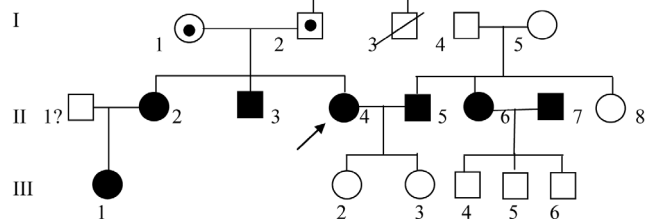


Рис. 2. Родословная семьи с нейросенсорной тугоухостью (у пациентов II2, II3, II4, III1 генотип с.[35delG];[35delG] по гену *GJB2*, у больных II5, II6, II7 генотипы [wt];[wt] по гену *GJB2*).

тическом обследовании их больных детей (II5 и II6) мутаций в гене *GJB2* выявить не удалось.

Анализ четвертой ядерной семьи из этой родословной показал, что АР ННТ у родителей (II4 и II5) связана с мутациями в разных генах: у II4 в гене *GJB2*, а у II5 в не идентифицированном в нашем исследовании гене. В результате у них родились нормально слышащие дети III2 и III3, которые являются гетерозиготными носителями как мутаций в гене *GJB2*, так и в не идентифицированном в нашем исследовании гене АР ННТ. Учитывая это обстоятельство, при расчете генетического риска для III2 и III3 следует анализировать разные сценарии в зависимости от того, болен будущий супруг или здоров, результатов его молекулярно-генетического обследования. Если обследование будущего супруга не проводилось, при расчете риска следует учитывать особенности распространенности разных генетических форм ННТ в популяции, из которой происходит будущий супруг, как это показано выше.

В представленной на рис. 2 родословной есть еще одна ядерная семья: больные родители II6 и II7 и их трое здоровых детей III4-6. Рождение трех здоровых детей с высокой вероятностью указывает на АР тип наследования ННТ в этой семье, а результаты молекулярно-генетического анализа свидетельствуют о том, что у обоих родителей заболевание не связано с мутациями в гене *GJB2*. Вероятно, что у них разные генетические формы АР ННТ, риск рождения больного ребенка в этой семье низкий.

При медико-генетическом консультировании семей с ННТ, состоящих в ассортативных браках, необходимы обязательное аудиологическое исследование и ДНК-диагностика даже здоровых членов семьи для исключения мягких рецессивных мутаций, приводящих к легкой степени тугоухости, которую зачастую пациенты не воспринимают как болезнь.

Представленные клинические примеры наглядно демонстрируют необходимость тщательного анализа каждой ядерной семьи для определения причины заболевания у каждого из супругов, а также учет соотношения различных по типу наследования форм заболевания и частоты носительства мутаций в популяции, из которой они происходят при определении риска рождения больных детей в ассортативных по глухоте браках. Кроме того, продемонстрировано значение молекулярно-генетического обследования для уточнения формы заболевания и определения генетического риска при разных типах браков, причем выявления только частых мутаций недостаточно для корректного генетического прогноза.

Список литературы

1. Блинец Е.А., Галкина В.А., Матюшенко Г.Н. и др. Изменения в гене коннексина 26 — *GJB2* — при нарушениях слуха у российских пациентов: результаты многолетней молекулярной диагностики наследственной несиндромальной тугоухости. Генетика. 2012;48:110-121.
2. Morton C.C., Nance W.E. Newborn hearing screening — a silent revolution. N. Engl. J. Med. 2006;354(20):2151-2164. DOI 10.1056/NEJMr050700
3. Petit, C., Levilliers, J. & Hardelin, J. Molecular genetics of hearing loss. Annu. Rev.Genet. 35, 589-646 (2001).
4. Kenneson, A., Van Naarden Braun, K. & Boyle, C. GJB2 (connexin 26) variants and nonsyndromic sensorineural hearing loss: a HuGE review. Genet. Med. 4, 258-274 (2002).
5. The Human Gene Mutation Database HGMD Professional 2017.3 <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/>, дата последнего обращения 21.11.2017.
6. Посух О.Л., Бады-Хоо М.С., Зыпарь М.В. и др. Роль социально-демографической структуры сообществ глухих людей в распространенности наследуемых форм потери слуха. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(1):7-15. DOI 10.18699/VJ16/098
7. Nance W.E., Kearsey M.J. Relevance of connexin deafness (DFNB1) to human evolution. Am. J. Hum. Genet. 2004;74(6):1081-1087. DOI 10.1086/420979
8. Middleton A, Hewison J, Mueller RF: Attitudes of deaf adults toward genetic testing for hereditary deafness. Am J Hum Genet 1998;63:1175-1180
9. Middleton A, Hewison J, Mueller R: Prenatal diagnosis for inherited deafness: what is the potential demand? J Genet Couns 2001, 10:121-131
10. Martinez A, Linden J, Schimmenti LA, et al. Attitudes of the broader hearing, deaf, and hard-of-hearing community toward genetic testing for deafness. Genet Med 2003, 5:106-112
11. Tekin M., Xia X.J., Erdenetungalag R., et al. *GJB2* mutations in Mongolia: complex alleles, low frequency, and reduced fitness of the deaf // Ann. Hum. Genet. — 2010. — Vol. 74. — P. 155-164.
12. Teryutin F.M., Barashkov N.A., Kunel'skaya N.L., et al. The audiological analysis in the patients homozygous for the c.-23+1G>A mutation in the *GJB2* gene presenting with the loss of hearing in Yakutiya. Vestn Otorinolaringol 2016;81(1):19-24.
13. Cryns K, Orzan E, Murgia A, et al. A genotype-phenotype correlation for *GJB2* (connexin 26) deafness. J Med Genet. 2004 Mar; 41(3):147-54.
14. Rikert L. Snoeckx, Patrick L., et al. GJB2 Mutations and Degree of Hearing Loss: A Multicenter Study. Am. J. Hum. Genet. 2005;77:945-957.
15. Петрина Н.Е., Блинец Е.А., Зинченко Р.А., Макаов А.Х.-М., Петрова Н.В., Васильева Т.А., Чудакова Л.В., Петрин А.Н., Поляков А.В., Гинтер Е.К. Частота мутаций гена *GJB2* у больных наследственной несиндромальной нейросенсорной тугоухостью в девяти популяциях Карачаево-Черкесской республики. Медицинская генетика. 2017;16(2):19-25.
16. Современное медико-генетическое консультирование / под ред. Е.К.Гинтера, С.И. Козловой. М.: Авторская Академия, 2016. 304с.