

РАСПРОСТРАНЕНИЕ «ГЛУХОЙ» МУТАЦИИ 35delG ГЕНА GJB2 СРЕДИ ЗДОРОВОГО НАСЕЛЕНИЯ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ

ЖУРАВСКИЙ С. Г., ИВАНОВ С. А.¹, ТАРАСКИНА А. Е.², ГРИНЧИК О. В.³, КУРУСЬ А. А.

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. академика И. П. Павлова»,

¹ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования»,

²Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова РАН,
Санкт-Петербург,

³ГУЗ «Калининградская областная клиническая больница»,
Калининград

Журавский С. Г., Иванов С. А., Тараскина А. Е., Гринчик О. В., Курусь А. А. Распространение «глухой» мутации 35delG гена GJB2 среди здорового населения Северо-Западного региона России // Мед. акад. журн. 2009. Т. 9. № 2. С. 41–45. ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», 197089, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 6/8; ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41; Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Российской академии наук, 188300, Ленинградская область, г. Гатчина, Орлова роща; ГУЗ «Калининградская областная клиническая больница», 236016, Калининград, ул. Клиническая, д. 74.

Обследована группа коренных жителей Северо-Западного региона России с целью выявления распространенности в здоровой популяции гетерозиготного носительства мутации 35delG гена GJB2, основного молекулярно-генетического фактора наследственной рецессивной доречевой глухоты у белых европейцев. Представлены результаты обследования банка ДНК крови жителей г. Архангельска и Архангельской области, г. Пскова и Псковской области, г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области, г. Калининграда и Калининградской области (всего 1153 человека). Обнаружены стабильные показатели количества гетерозиготных носителей мутации 35delG гена коннексина 26 в группе здоровых (5%; 4,7%; 5,5%; 7,5% соответственно), значительно превышающие известные европейские показатели. Обсуждаются возможные причины столь значительного распространения мутации 35delG среди россиян.

Ключевые слова: наследственная рецессивная доречевая глухота, мутация 35delG гена GJB2, коннексин 26, этногеография, Северо-Западный регион России.

Zhuravskiy S. G., Ivanov S. A., Taraskina A. E., Grinchik O. V., Kurus A. A. Prevalence of GJB2 gene mutation 35delG among healthy population of Northwest Region of Russia // Med. Acad. Journ. 2009. Vol. 9. № 2. P. 41–45. Pavlov State Medical University of the Federal Agency for Public Health and Social Development of the Russian Federation, 197089; Medical Academy of Postgraduate Education, 191015, St. Petersburg; B. P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, 188300, Orlova roscha, Gatchina; Kaliningrad Regional Clinical Hospital, 236016, Kaliningrad.

Mutation 35delG of GJB2 gene is a major genetic factor of hereditary recessive prelingual deafness in Caucasian population. This study investigated heterozygous carrier prevalence of the mutation among healthy native population of Northwest region of Russia. DNA analysis was carried out on blood material from inhabitants (n=1153) of Arkhangelsk, Pskov, Saint Petersburg and Kaliningrad region. The prevalence of heterozygous 35delG/GJB2 mutation in healthy individuals was found to be 5.0%, 4.7%, 5.5%, and 7.5%, respectively, which is considerably higher than the average prevalence in Europe. Possible causes of such high prevalence of the 35delG/GJB2 mutation are discussed.

Key words: Hereditary recessive prelingual deafness, 35delG/GJB2 mutation, connexin 26, ethnogeography, Northwest Russia.

По современным представлениям более половины случаев врожденной глухоты, встречаемость которой в популяциях составляет ~ 1 на 750–1000 новорожденных, связывают с наследственной патологией.

Анализ литературы последнего десятилетия показывает, что наиболее частым молекулярным фактором несиндромной тугоухости-глухоты являются мутации гена коннексина 26 [7, 10, 15, 17]. Коннексин

26 – член большого семейства протеинов мембранных транспортных белков, формирующих цилиндрические межклеточные щелевые контакты. Последние образованы множеством трансмембранных коннексонов, каждый из которых, в свою очередь, сформирован шестью молекулами коннексинов. При этом клетка через собственные коннексоны контактирует с такими же структурами на мембране другой клетки, имея тем самым каналы для пассивной диффузии

малых молекул размером до 1–1,2 кД, вторичных мессенджеров, метаболитов, а также электролитов [16]. Молекула коннексина 26 кодируется геном GJB2 (gap junction protein B-2), картированным в длинном плече 13 хромосомы (локус 13q11). В нормальной улитке коннексин 26 экспрессируется на мембранах несенсорных эпителиальных клеток, обеспечивая процесс рециркуляции K^+ . Молекулярный патогенез глухоты при коннексиновой дисфункции определяется угнетением именно этого механизма. Генетический дефект белка щелевых контактов коннексина 26 приводит к необратимой дегенерации чувствительного эпителия и прогрессирующей утрате слуха в течение первых 1–2 лет жизни ребенка (более подробно см. в обзоре [1]).

Причиной тугоухости, ассоциированной с коннексином 26, могут быть различные мутации гена этого белка (как рецессивные, так и доминантные), которых известно более 70. Наиболее частой является рецессивная мутация 35delG – единичная делеция одного из шести нуклеотидов гуанозинон (G) между положением 30 и 35 включительно [1]. Полагают, что на долю 35delG приходится 50–70% всех мутаций GJB2 в европейской популяции, что выделяет ее в ранг так называемых «мажорных» для белого европейского населения [8].

Частота носителей 35delG в Европе выше, чем встречаемость у европейцев мутации $\Delta F508$ в гене CFTR при муковисцидозе, мутации C282Y в гене HFE при гемохроматозе [15]. Так, гетерозиготное носительство всех мутаций 35delG гена GJB2 среди здоровых европейцев составляет 1–3% и зависит от региона [8,15].

Несмотря на то, что мутации гена GJB2 изучаются во всем мире уже более 15 лет, их анализ в России находится только на начальных этапах. При этом уже первые исследования показали высокую частоту распространения 35delG и некоторых других мутаций GJB2 среди пациентов со спорадической и семейной глухотой в популяции россиян [2–5]. Однако масштаб этих исследований остается неудовлетворительным для России как для страны с протяженной территорией, обособленностью части популяционных групп,

а также различной этнической структурой коренного населения.

Цель исследования – изучить распространенность мутации 35delG гена коннексина 26 (GJB2) среди популяционных групп Северо-Западного региона России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследован материал 1153 здоровых субъектов-доноров (603 мужского и 550 женского пола) в возрасте от 16 до 55 лет, проживающих в ряде городов Северо-Западного региона России: Санкт-Петербурге, Пскове, Архангельске, Калининграде – и на территориях их областей.

Для ДНК-анализа геномную ДНК лейкоцитов периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции, затем растворяли в воде и хранили при температуре -20°C . Идентификация мутации 35delG в гене GJB2 проводилась по методу [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящим исследованием впервые проведен анализ распространенности гетерозиготного носительства 35delG среди здоровой популяции коренных жителей Северо-Западного региона России. Анализ банка ДНК обследуемой популяционной группы обнаружил стабильные показатели распространенности носительства 35delG на уровне 5% (табл. 1).

Забор крови в Подпорожском районе Ленинградской области (регион Прионежья) с анализом места проживания обследуемых позволил оценить частоту встречаемости носителей-гетерозигот в отдельных деревнях района.

Геногеографическая специфика данного региона определяется уникальностью коренного населения – народности вепсов, представителей финно-угорской лингвистической группы, предки которых в древности осуществили миграцию с Северного Урала на территории русского Севера и современной Финляндии.

Таблица 1

Носительство мутации 35delG среди здорового населения популяционных групп Северо-Западного региона России

Территория	Количество здоровых обследованных доноров	Гетерозиготное носительство 35delG
г. Санкт-Петербург	308	17 (5,5%)
Ленинградская область	Подпорожский район	13 (5,9%)
	Иван-город	4 (3,3%)
г. Архангельск и область	200	10 (5%)
г. Псков и область	107	5 (4,7%)
г. Калининград и область	200	15 (7,5%)
Всего	1153	64 (5,5%)

Среди 12 обследованных деревень Подпорожского района (общее число обследованных – 218 человек, принадлежащих к вепсской этнической группе) выделялись географические объекты – деревни Винницы, Ярославичи и Ладва, где было обнаружено наибольшее количество носителей гетерозигот 35delG (до 10–12% обследованного населения) (табл. 2). Эти населенные пункты считаются исторически наиболее древними из сохранившихся исконно вепсских поселений. Кроме того, деревня Ладва территориально наиболее удалена от центра Подпорожского района. Здесь и сегодня большинство взрослого населения говорит на родном (вепском) языке, формируя в сочетании с характерными внешними чертами (светло-русые волосы, голубые глаза, округлая форма лица) своеобразный этнокультурный колорит этой местности.

Таблица 2

Распространенность гетерозиготной формы мутации 35delG гена GJB2 среди здоровых жителей деревень Подпорожского района Ленинградской области

Деревни	Количество обследованных	Количество гетерозиготных носителей	%
Курба	19	1	5,5
Кузра	20	0	
Шондуши	7	0	
Немжа	19	2	
Нордиги	12	0	
Пелдуши	14	1	
Озера	27	1	
Мягозеро	1	0	
Вонозеро	34	0	
Ярославичи	24	2	
Ладва	32	4	
Винницы	9	1	
Всего	218	12	

Поскольку вепсский этнос считается одним из древнейших не только на территории современной Ленинградской области, но и, возможно, на всем Северо-Западе России, именно он может являться изолированным резервуаром поддержания, а сегодня и распространения рецессивных мутаций на русском Севере.

Таким образом, мутация 35delG, являясь мажорной для белого европейского населения, также широко распространена и среди коренного населения популяционных групп Северо-Западного региона России. Подтверждением существования «эффекта основателя» как одной из причин накопления гетерозигот 35delG является факт преимущественного обнаружения мутации среди жителей наиболее древних

из сохранившихся поселений вепсов: у 7 из 65 жителей деревень Ладва, Винницы, Ярославичи в сравнении с 5 из 153 жителей других, исторически более молодых поселений (точный критерий Фишера, $P = 0,046$). В то же время, помимо традиционной теории «эффекта основателя», объяснением значительного распространения рецессивной «глухой» мутации в популяции здорового населения могут быть и иные, более нестандартные предположения (табл. 3). Так, у нас есть гипотеза, что возникновение в природе, поддержание и нахождение гетерозигот 35delG могло являться результатом определенного направления эволюционного поиска. При этом «оптимальный» уровень гетерозигот по мутации гена коннексина 26 в популяциях поддерживается тысячелетиями с целью обеспечения определенного эффекта «биологической целесообразности» [11] – селективных преимуществ при форс-мажорных для человека как вида (популяционной группы) обстоятельствах (эпидемии инфекционных заболеваний). Так, исследование гистологических препаратов кожи гомо- и гетерозиготных носителей еще одной мажорной мутации GJB2 – R143W, распространенной среди африканцев, показало значительное утолщение эпидермиса и повышенную секрецию Cl^- и Na^+ в кожном поте по сравнению с родственниками – носителями дикого типа гена [11]. J. E. A. Common et al. (2004) in vitro показали, что ассоциированные с глухотой мутации GJB2 являются условием повышенной клеточной выживаемости. Так, в культуре кератиноцитов гетерозиготное носительство рецессивных «глухих» мутаций GJB2 (M34T, W44C, R143W), ингибируя механизм одного из вариантов программируемой клеточной гибели – терминальной дифференцировки, приводит к утолщению слоя эпителия. Полагают, что последнее, увеличивая барьерные свойства эпидермиса, способно редуцировать бактериальные инвазии и инфекции. Здесь можно обратить внимание, что в патогенезе инвазии *Shigella flexneri* – возбудителя бациллярной дизентерии – задействовано открытие канала коннексина 26 [14]. Известны преимущества здоровых гетерозиготных носителей мутации другого распространенного рецессивного заболевания человечества – муковисцидоза. Возбудитель сальмонеллеза *Salmonella typhi* использует для входа в клетку кишечного эпителия активный хлорный канал CFTR. Оказалось, что самая распространенная у европейцев мутация гена CFTR – delF508 – ограничивает инвазию *Salmonella typhi* в эпителиальные клетки кишечника, что проявляется меньшей выраженностью тифоидной лихорадки [13].

Поэтому в направлении будущих исследований представляется крайне интересным выяснить, случайно ли явление значительной распространенности мутации 35delG гена GJB2 или же оно определяет

Факторы, способствующие значительному накоплению мутации 35delG в популяции россиян

Факторы сегрегации 35delG		Среда сегрегации 35delG
Биологической природы	1. Сохранное соматическое здоровье и репродуктивный потенциал индивидуумов с наследственными коннексиновыми формами глухоты [12] 2. Эффект «основателя мутации» 3. Действие эволюционного отбора: – биологическая целесообразность (возможно, сниженная чувствительность к бактериальной инфекции) [9]; – фактор «социокреативного преимущества» [6] носителей мутации, склонность к миграции (предположение авторов статьи)	Глухие Слышащие Глухие, слышащие Слышащие
Антропогенной природы	1. Характерная для всех обществ социальная традиция создания семей среди глухих [12] 2. Относительное увеличение глухих в общей популяции: – в период демографического кризиса в обществе, больше затронувшего слышащих, чем глухих (смертность в годы Великой Отечественной войны, гибель населения в период сталинских репрессий); – изоляция глухих от социально-политических процессов в стране	Глухие Слышащие

ся каким-либо биологическим или антропогенным фактором.

Результаты настоящей работы обоснованно подтверждают положение о первоочередном исследовании мутации 35delG в гене GJB2 при медико-генетическом консультировании детей с подозрением на генетическую природу детской доречевой глухоты, по крайней мере, среди жителей Северо-Западного региона России.

При столь высокой распространенности гетерозиготного носительства 35delG явление наследственной рецессивной доречевой глухоты в России не только становится вопросом детской сурдологии, специальной педагогики и социальных служб, но и приобретает характер актуальной национальной проблемы, требующей принятия определенных (специфических) мер профилактики. Настоящие результаты, данные наших предыдущих исследований [2], а также других отечественных авторов [3, 4, 5] являются актуальным фактическим основанием к разработке для регионов проживания европейского населения россиян национальной программы ДНК-скрининга новорожденных с целью раннего (доклинического) выявления индивидов с облигатным развитием к возрасту 1 года генетической глубокой тугоухости-глухоты. Следует обратить внимание на то, что в Греции, где частота носителей мутации среди здоровых в 1,5 раза ниже, чем в нашем регионе (около 3,5%), действует подобная государственная программа пренатальной диагностики глухоты [7], аналогичная диагностике болезни Дауна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мутация 35delG в гене GJB2 – известная генетическая причина детской доречевой утраты слуха

– имеет значительную распространенность среди популяционных групп Северо-Западного региона России.

Вепский этнос представляет собой древнейший изолированный этнический резервуар поддержания и распространения мутации 35delG гена GJB2 на Северо-Западе России. Популяционный патогенез мутации определяется «эффектом основателя».

Учитывая столь высокие показатели распространенности мутации 35delG гена GJB2 целесообразно инициировать разработку национальной программы молекулярного скрининга наследственной доречевой глухоты на доклиническом этапе в неонатальном периоде, а возможно, и в режиме пренатальной диагностики.

Принимая во внимание давнюю историю межнациональных отношений в России, актуально изучение распространения помимо 35delG еще и других известных этнических мажорных рецессивных мутаций гена GJB2.

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

Литература

1. Журавский С.Г., Сетхиясилян Т.К., Лопотко А.И. и др. Молекулярная генетика несиндромных наследственных форм сенсоневральной тугоухости (Обзор литературы) // Рос. оторинолар. 2004. Т. 7. № 6. С. 164–177.
2. Журавский С.Г., Тараскина А.Е., Сетхиясилян Т. и др. Молекулярно-генетические аспекты прелингвальной сенсоневральной тугоухости // Рос. оторинолар. 2004. № 4 (11). С. 42–44.
3. Маркова Т.Г., Мегрелишвили С.М., Зайцева Н.Г. и др. ДНК-диагностика при врожденной и ранней

- детской тугоухости и глухоте // Вестн. оторинолар. 2002. № 6. С. 12–15.
4. Хидиятова И.М., Джемилева Л.У., Хабибуллин Р.М., Хуснутдинова Э.К. Анализ частоты мутации 35delG в гене коннексина 26 (GJB2) у больных с не-синдромальной аутосомно-рецессивной глухотой из Башкортостана и в популяциях народов Волго-Уральского региона // Мол. биол. 2006. Т. 36. № 3. С. 438–441.
 5. Шокарев Р.А., Амелина С.С., Зинченко Р.А. и др. Роль мутации 35delG в возникновении наследственных форм нейросенсорной глухоты в Ростовской области // Мед. генетика. 2006. Т. 5. Прил. 1. С. 38–43.
 6. Эфроимсон В.П. Генетика этики и эстетики. М.: Тайдекс Ко, 2004. 302 с.
 7. Antoniadis T., Pampanos A., Petersen M.B. et al. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation // Prenat. Diagn. 2001. Vol. 21. № 1. P. 10–13.
 8. Casparini P., Rabionet R., Barbujani G. et al. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. Genetic analysis consortium of GJB2 35delG // Eur. J. Hum. Genet. 2000. Vol. 8. № 1. P. 19–23.
 9. Common J.E.A., Di W.L., Davies D., Kelsell D.P. Further evidence for heterozygote advantage of GJB2 deafness mutations: a link with cell survival // J. Med. Genet. 2004. Vol. 41. № 7. P. 573–575.
 10. Lucotte G., Mercier G. Meta-analysis of GJB2 mutation 35delG frequencies in Europe // Genet. Test. 2001. Vol. 5. № 5. P. 149–152.
 11. Meyer C.G., Amedofu G.K., Brandner J.M. et al. Selection for deafness // Nature Med. 2002. Vol. 8. № 12. P. 1332–1333.
 12. Nance W.E., Liu X.Z., Pandya A. Relation between choice of partner and high frequency of connexin-26 deafness // Lancet. 2000. Vol. 356. № 9228. P. 500–501.
 13. Pier G.B., Grout M., Zaidi T., Meluleni G. et al. Salmonella typhi uses CFTR to enter intestinal epithelial cell // Nature. 1998. Vol. 393. № 6680. P. 79–82.
 14. Tran van Nhieu G., Clair C., Bruzzone R. et al. Connexin-dependent inter-cellular communication increases invasion and dissemination of Shigella in epithelial cells // Nat. Cell. Biol. 2003. Vol. 5. № 8. P. 720–726.
 15. van Laer L., Coucke P., Mueller R.F. et al. A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment // J. Med. Genet. 2001. Vol. 38. P. 515–518.
 16. White T.W., Bruzzone R., Paul D.L. The connexin family of intercellular channel forming proteins // Kidney Int. 1995. Vol. 48. № 4. P. 1148–1157.
 17. Zelante L., Gasparini P., Estivill X. et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neuro-sensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans // Hum. Mol. Genet. 1997. Vol. 6. P. 16059.

Представлена академиком РАМН Ю. Д. Игнатовым.