

Н. Хушвакова

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ
ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ**

монография



616.21-053
X 980

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЕ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

МИНИСТЕРСТВО СРЕДНЕГО И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

ХУШВАКОВА НИЛЮФАР ЖУРАКУЛОВНА

КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ
ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ

монография



Ташкент – 2017

ХУШВАКОВА Нилюфар Журакуловна (доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии и стоматологии Самаркандского медицинского института). **КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ.** Монография.

E-mail: nilumedlor@mail.ru

Рецензенты:

Маткулиев Х.М. – д.м.н., профессор, кафедры ЛОР болезней Ташкентской медицинской академии

Кудейбергенова С.Ф. - д.м.н., профессор, заведующая кафедрой оториноларингологии КазНМУ имени С.Д.Асфендиярова (Казахстан)

В данном издании, в рамках программы по оториноларингологии, кратко изложены сведения, относящиеся к одному из разделов – клинической аудиологии и молекулярной генетики. Руководство включает в себя не только базисные знания, касающиеся этого предмета, но и содержит современные научные по некоторым его разделам. Монография предполагается использовать в качестве вспомогательного источника информации при проведении практических занятий и лекций по курсу оториноларингологии для врачей и студентов.

В монографии представлены современные подходы к диагностике и профилактике наследственных форм нарушений слуха, включая кровнородственные браки (имбридинг). Представлен алгоритм обследования детей с группой риска, возможности клинической и молекулярной генетики в практическом здравоохранении, что будет способствовать профилактике появления детей с тяжелыми врожденными нарушениями слуха, обусловленными наследственными причинами. Мероприятия по установлению наследственной патологии органа слуха повышают эффективность раннего выявления и ранней реабилитации детей, страдающих наследственными формами тугоухости.

Авторы надеются, что книга представит определенный интерес и для врачей смежных специальностей - врачей оториноларингологов, сурдологов-оториноларингологов, генетиков, неонатологов, педиатров и сурдопедагогов, а также ординаторов, и может быть использована в структуре работы лечебно-поликлинических учреждений здравоохранения.

Настоящая монография утверждена и рекомендована к печати решениями Координационного совета по хирургии отдела по координации научно-исследовательской деятельности МЗ РУз (протокол № 01, от 24.01.2017 г.) и Научного совета СамМИ (протокол № 2, от 23.11.2016 г.)

Содержание

Краткий справочник генетических терминов.....	6
Введение.....	10
Глава I. Эпидемиология, этиология, диагностика и лечение наследственной нейросенсорной тугоухости у детей (Литераутрнный обзор)	14
1.1. Эпидемиология сенсоневральной тугоухости.....	14
1.2. Этиологическая структура нарушений слуха у детей.....	18
1.3. Роль наследственных факторов в генезе развитии нейросенсорной тугоухости у детей.....	26
1.4. Современные подходы к диагностике и лечению нейросенсорной тугоухости у детей.....	45
1.5. Аудиологические исследования при отборе пациентов на кохлеарную имплантацию.....	55
Глава II. Клинический материал и методы исследования.....	58
2.1. Клиническая характеристика больных.....	58
2.2. Методы аудиологических исследований.....	63
2.3. Медико-генетическое исследование.....	71
2.4. Техника расчета при статистической обработке результатов панмиксной и инбредной групп.....	86
2.5. Статистическая обработка.....	88
Глава III. Результаты клиинко-аудиологического исследования	90
3.1. Результаты комплексного аудиологического исследования детей с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью.....	90
3.2. Результаты клиинко-аудиол гических показателей у больных детей с несиндромальной НСТ, связанные с мутациями в гене коннексина 26.....	105
3.3. Анализ причин нейросенсорной тугоухости обследования больных после ДНК-диагностики по мутации 35delG.....	112

3.4.	Клиническая характеристика больных неросенсорной тугоухостью по семейному анамнезу после медико-генетического исследования.....	117
Глава IV. Результаты медико-генетического обследования больных с наследственной нейросенсорной тугоухостью.....		
		120
4.1.	Результаты клинико-генетического консультирования больных при несиндромальных нейросенсорных формах тугоухости.....	120
4.2.	Результаты молекулярно-генетического исследования детей при несиндромальных нейросенсорных формах тугоухости.....	124
4.3.	Результаты статистического анализа генетической ассоциации генотипов по мутации 35 delG гена коннексина-26 с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью.....	130
Глава V. Оценка клинической эффективности реабилитации и профилактики нейросенсорной тугоухости у детей.....		
		133
5.1.	Клинические аспекты реабилитационной и профилактической тактики несиндромальной нейросенсорной тугоухости.....	133
5.2.	Алгоритм диагностики и прогнозирования несиндромальной нейросенсорной тугоухости у детей.....	140
5.3.	Показания к генетическому исследованию и определения групп риска детей с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью.....	143
ВЫВОДЫ.....		149
ПРИЛОЖЕНИЯ.....		150
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		152
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....		163

От автора

Выражаю искреннюю благодарность ректору Самаркандского медицинского института профессору **А.М.Шамсиеву** за постоянную поддержку при выполнении исследований.

Искренне благодарю за постоянные научные дискуссии, критическую оценку и всестороннюю практическую помощь заведующему лабораторией геномики человека, профессору **Р.С.Мухамедову**, а также сотрудников лабораторий биотехнологий растений и функциональной геномики человека Института Биохимии АНРУз.

Искренне признательны администрации Самаркандского областного детского многопрофильного медицинского центра главному врачу профессору **М.К.Азизову** и сотрудникам биохимической лаборатории, за внесенный вклад в процессе выполнения прикладного научного проекта (АЁСС-3), в рамках которых проводились исследования.

Краткий справочник генетических терминов

Аллель — одна из двух (или нескольких) альтернативных структурных форм состояний гена, каждая из которых характеризуется уникальной последовательностью нуклеотидов.

Гамета — половая клетка.

Гаплоидный набор хромосом — набор хромосом в гаметах, который равен половине диплоидного набора соматических клеток.

Гаплотип — сочетание аллелей одного локуса, расположенных на одной хромосоме.

Ген (от *греч.* *genos* — происхождение) — элементарная единица наследственности, наименьший неделимый элемент наследственного материала, который может быть передан от родителей потомству как целое, который определяет признаки, свойства или физиологическую функцию организма. На молекулярном уровне — это участок молекулы ДНК, кодирующий первичную структуру белков и РНК.

Генотип — сочетание аллелей нескольких локусов, расположенных на разных хромосомах; совокупность всех наследственных свойств организма.

Ген-кандидат — структурный ген в геноме человека, мутация которого предположительно является причиной конкретного наследственного заболевания.

Генетика — наука, изучающая механизмы и закономерности наследственности и изменчивости организма. Основы генетики заложены Г. Менделем, открывшим законы наследственности.

Генетический код — свойственная живым организмам единая система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот в виде последовательности нуклеотидов. Каждый нуклеотид обозначается заглавной буквой, с которой начинается название азотистого основания, входящего в его состав: А (A) — аденин, Г (G) — гуанин, Ц (C) — цитозин, Т (T) — тимин (в ДНК) или У (U) — урацил (в мРНК). Реализация генетического кода в клетке происходит в два этапа: транскрипция

(синтез мРНК) и трансляция (синтез белка).

Геном — ДНК, содержащаяся в гаплоидном наборе хромосом клетки определенного вида организма. В расширенном виде под геномом понимается вся наследственная система клетки.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — высокополимерное природное соединение, содержащееся в ядрах клеток всех живых организмов, носитель генетической информации. Отдельные участки ДНК соответствуют определенным генам. ДНК точно воспроизводится при делении клеток, что обеспечивает в ряду поколений клеток и организмов передачу наследственных признаков и специфических форм обмена веществ.

Интрон — некодирующая область, расположенная внутри гена. Интрон вырезается (удаляется) в процессе превращения первичной РНК в зрелую мРНК.

Кодон — дискретная единица генетического кода, состоящая из трех последовательно расположенных нуклеотидов в молекуле ДНК или РНК. Из 64 кодонов 61 кодирует определенные аминокислоты, а 3 стоп-кодона определяют окончание синтеза полипептидной цепи. Последовательность кодонов в гене определяет последовательность аминокислот в полипептидной цепи белка, кодируемого этим геном.

Локус — участок хромосомы, в котором содержится определенная нуклеотидная последовательность.

Мутация — наследственное изменение генома; основа наследственной изменчивости в живой природе.

Рестриктаза — бактериальный фермент, расщепляющий ДНК в строго определенных по последовательности нуклеотидов участках.

Рибонуклеиновые кислоты — тип нуклеиновых кислот; высокомолекулярные органические соединения, состоящие из 4-х нуклеотидов (аденин, гуанин, цитозин, урацил) и сахара рибозы. В клетках всех организмов РНК участвует в реализации генетической информации.

Различают 3 основных вида РНК:

- мРНК — матричные или информационные;
- тРНК — транспортные;
- рРНК — рибосомные РНК.

Секвенирование — определение нуклеотидной последовательности молекулы нуклеиновой кислоты.

Структурный ген — ген, кодирующий синтез полипептидной цепи (белка).

Транскрипция — биосинтез РНК на матрице ДНК, осуществляющийся в клетках организма ферментами, называемыми РНК-полимеразами. Транскрипция — первый этап реализации генетического кода, в ходе которого последовательность нуклеотидов ДНК переписывается в нуклеотидную последовательность РНК.

Трансляция — биосинтез полипептидных цепей белков, идущий в клетках путем считывания генетической информации, записанной в виде последовательности нуклеотидов в молекулах матричных РНК. Трансляция — второй этап реализации Генетического кода.

Фенотип — совокупность всех внутренних и внешних свойств особи, сформировавшихся на базе генотипа в процессе ее индивидуального развития (онтогенеза).

Хромосома — структура, расположенная в клеточном ядре, состоящая из ДНК, гистонов и негистоновых белков и способная к самовоспроизведению с сохранением структурно-функциональной индивидуальности.

Экзоны — фрагменты генов, кодирующие белки.

Экспрессия — работа, функционирование гена.

- 35delG** - мутация в гене GJB2 (Cx26)– однонуклеотидная делеция
- A/N** - генотип гетерозигот по мутации 35delG в гене Cx26
- DFN** - X-сцепленный локус глухоты
- DFNA** - аутосомно-доминантный локус глухоты
- DFNB** - аутосомно-рецессивный локус глухоты

GJB2 (Cx26)	
и	
GJB6 (Cx30)	- ген коннексина 26 и ген коннексина 30
Кб	- килобаз, тысяча пар нуклеотидов
N/N	- негативный генотип, мутация 35delG не обнаружена
SSCP	- полиморфизм конформации одно цепочечных фрагментов
A/A	- генотип гомозиготного носителя мутации 35delG в гене Cx26
ДД	- динамический диапазон
ЗВОАЭ	- задержанная вызванная отоакустическая эмиссия
кДНК	- комплементарная ДНК
КИ	- кохлеарная имплантация
КСВП	- коротколатентные слуховые вызванные потенциалы
МГК	- медико-генетическое консультирование
мРНК	- матричная РНК
мт- ДНК	- митохондриальная ДНК
ННСТ	- несиндромальная нейросенсорная тугоухость
НСТ	- нейросенсорная тугоухость
ОАЭ	- отоакустическая эмиссия
ОАЭПИ	- отоакустическая эмиссия продукта искажения
ПААГ	- полиакриламидный гель
ПДРФ	- полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
СА	- слуховой аппарат
СН	- слуховая нейропатия

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения 7% населения страдает нарушением слуховой функции. В США выявлено нарушение слуха у 6,7% населения. Врожденная тугоухость – одно из частых заболеваний человека, регистрируемое в среднем с частотой 1:1000 новорожденных детей.

Считается, что от 22 до 50% случаев врожденной тугоухости, развивающейся еще в раннем детском возрасте, обусловлено генетическими причинами. При этом около 75% из них проявляется несиндромальными нарушениями слуха. При наследственной предрасположенности вероятность заболевания нейросенсорной тугоухостью возрастает в 15–20 раз. Частота поражения органа слуха, связанного с эмбриологическими, генетическими или врожденными причинами, составляет 7–10% от общего числа новорожденных.

После приобретения независимости в нашей стране, в процессе преобразования системы здравоохранения, охране материнства и детства уделяется еще большее внимание. В результате осуществляемых программных мер, за годы независимости достигнуты весомые успехи в деле оказания качественной медицинской услуги населению.

Важно отметить, что врожденная нейросенсорная тугоухость (НСТ) является не только медицинской, но и социальной проблемой во всем мире. Одним из наиболее актуальных вопросов современной оториноларингологии является совершенствование методов ранней диагностики и прогнозирования нейросенсорной тугоухости у детей.

Своевременная диагностика причин тугоухости, выявление генетической ситуации, прогноз рождения здорового ребенка и тактика ведения таких семей является важным моментом формирования здорового поколения не только для семьи в отдельности, но и в целом для государства.

Настоящее диссертационное исследование соответствует задачам, принятым в Государственных программах и

постановлениях Президента Республики Узбекистан «Год гармонично развитого поколения» от 27 января 2010 года № 1271, «О государственной программе раннего выявления врожденных и наследственных заболеваний для предупреждения рождения инвалидов с детства на период 2013–2017 годы» от 12 марта 2013 года № 1235, «Год здорового ребенка» от 19 февраля 2014 года № 2133, «Год здоровой матери и ребенка» от 9 февраля 2016 года № 2487.

Научно-исследовательские работы, направленные на экологические, клинико-иммунологические, наследственные факторы угрозы развития нейросенсорной тугоухости, механизмы патогенетического развития заболевания, а также диагностирования, лечения и предупреждения этой болезни, проводятся в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе в Seoul National University и College of Medicine (Южная Корея), University of Cambridge (Англия), University of Melbourne (Австралия), Erasmus MC-Sophia Children's Hospital (Rotterdam, Нидерланды), St.Francis Hospital and Medical Center (Hartford, США), Российский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи (Россия), Ташкентская медицинская академия и научно исследовательский институт Педиатрии (Узбекистан).

В ходе диагностирования и лечения несиндромальной нейросенсорной тугоухости, а также изучения проведенных исследований в мире по этой проблеме, получены следующие научные результаты, в том числе: определены идентификация некоторых генов отвечающие на развитие врожденной патологии уха (Seoul National University, College of Medicine, Южная Корея); обоснованы результаты универсального скрининга новорожденных, показали, что она увеличивается к возрасту 9 лет, причем уровень нарушений слуха оказался выше в два раза у детей младшего возраста (University of Cambridge, Англия); определены показатели тугоухости среди детей ясельного возраста которые составили 0,64 на 1000, то среди детей детских садов - 1,54, а среди

школьников в возрасте 7-14 лет - 2,75 (Erasmus MC-Sophia Children's Hospital, Rotterdam, Нидерланды).

В настоящее время в мировом масштабе по диагностированию, лечению, эффективной профилактике этой болезни ведутся научные исследования по ряду приоритетных направлений, в том числе: обоснован связь экзогенного фактора с наследственным фактором приводящие к НСТ; разработан метод ранней диагностики и эффективной лечения при помощи слуховых тестов и генетических тестов A1555G митохондриального гена 12S р-РНК при этом заболевании; использовать в практике ген терапию в патогенетическом лечении болезни; доказано эффективность слухопротезирования в лечении этой патологии

По данным Green E. (2003) несиндромальной формой нейросенсорной тугоухости считается изолированная патология, которая передается генетически, что характерно при синдромальных формах (синдром Ушера; синдром Альпорта и т.д.). Ben Said M. (2006) указывает на важную роль генетических факторов в формировании нейросенсорной тугоухости. Косяков С.Я. (2012) указал, что успехи в этом направлении определяют своевременность постановки диагноза, что в свою очередь, будет определять тактику ведения таких больных.

По результатам исследований ряда авторов (Ходжаева К.А., 2005; Хакимов А.М., Шомахмадов У.Ш., Исмаатов Х.Х., 2005) в отдельных регионах Узбекистана встречаемость инбредных браков при гениологическом исследовании среди лиц узбекской национальности составляет от 9,7 до 13,2%.

Это особенно актуально для нашей республики, где в силу национальных обычаев и традиций, социально-экономических причин, а также географических условий, инбредные браки у коренного народа являются довольно частым явлением.

Специальные исследования, посвященные изучению генов-кандидатов возникновения НСТ, в России (Маркова Т.Г. 2005), У пациентов с клинически диагностированным синдромом Тричера Коллинза-Франческетти был проведен поиск мутаций в гене *TCOF1*, выявлена ранее не описанная мутация в гетерозиготном

состоянии в 23 экзоне (3635C>G) и обосновано его роль в развитии этого заболевания. В настоящее время накапливаются сведения о важной роли генетических факторов формирования НСТ, так как исследование генетической стороны этого вопроса дает возможность выявить тугоухость до функциональных нарушений органа слуха.

До сих пор одной из основных причин НСТ в республике является вступление в брак кровных родственников (инбридинг), что создает дополнительную необходимость для исследования влияния генетических факторов на развитие тугоухости.

ГЛАВА 1. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ЭТИОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ (Литературный обзор)

1.1. Эпидемиология нейросенсорной тугоухости

Проблема тугоухости в настоящее время приобретает все большую актуальность в медицинском и социальном аспекте. Считают, что проблемы со слухом выявляются у 4-6% населения земного шара, а число лиц с нарушениями слуха более 40 дБ на лучше слышащее ухо составляет порядка 300 млн (Petersen M.B., Willems P.J., 2006).

Обзор данных распространенности нарушений слуха среди населения стран мира показал различную частоту этой патологии не только в разных странах, но и в отдельных их географических регионах. Разброс данных может быть связан как с целым комплексом факторов, присущих той или иной географической местности, так и с отсутствием единого подхода к учету лиц с нарушениями слуха (Шаронова Е.И., Осетрова А.А., Зинченко Р.А., 2008).

Общепопуляционная частота врожденной тугоухости и глухоты составляет 1 на 650-1000 новорожденных детей. Согласно прогнозам к 2020 году ожидается увеличение численности населения с социально значимыми дефектами слуха более чем на 30%, причем считают, что хотя ежегодно это заболевание регистрируется у 15000 человек во всем мире, но реальная заболеваемость еще больше, так как многие пациенты не обращаются в медицинские учреждения (Morton et al., 2006; Chaleshtori et. al., 2007).

По прогнозам ВОЗ к 2020 году более 30% всей популяции земного шара будут иметь нарушения слуха. Данный прогноз указывает на отсутствие в перспективе снижения числа инвалидов по слуху в абсолютном и долевым выражении, как в Российской Федерации, так и в других странах, свидетельствуя о масштабе медицинской проблемы и ее социальной значимости (Загорянская и

др., 2003). Потеря слуха является одновременно медицинской и социальной проблемой, поскольку слуховое и общее умственное развитие тесно связаны, а способность говорить и понимать речь себе подобных - основная отличительная черта человеческого сообщества. Особенно остро проблема нарушения речевой коммуникативности проявляется у детей, поскольку ограниченный доступ раздражителей с раннего возраста приводит к формированию депривационных изменений в центральной нервной системе.

Детская тугоухость имеет особое значение, так как серьезное ухудшение функции органа слуха, возникшее в детском возрасте, в большой степени отражается на психосоматическом развитии ребенка. При этом, до 85% нарушений функции органа слуха наступает в первом-втором году жизни ребенка, то есть до развития речи или в период ее формирования. В целом, врожденная тяжелая глухота может поражать, по данным разных авторов, от 0,05% до 0,1% детей (Хидиятова И.М., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К., 2005).

М.Е. Загорянская и соавт., ссылаясь на данные Американской академии аудиологии, отмечают, что во всем мире ежегодно рождаются более 665 тысяч детей с нарушениями слуха, превышающими 40 дБ. По данным M.C.Lattiget al. (2008), в индустриально развитых странах рождается один глухой ребенок на 1000 новорожденных. Целенаправленный скрининг детского населения на нарушения слуха как результат крупномасштабного исследования с использованием слуховых тестов и генетического тестирования мутаций в гене Sx26, объединившего врачей и ученых развитых стран: США, Англии, Германии, Испании, Италии, Швеции, Финляндии и других, позволил выявить в среднем 1 случай глухоты на 650 новорожденных (Low W.K., Pang K.Y., Ho L.Y., Lim S.B., Joseph R., 2005; Korres S.G., Balatsouras D.G., Gkoritsa E. et al., 2006; Koehne P.S., Huseman D., Walch E., 2006; Kabátová Z., Pavlovcinová G., Profant M., 2009.).

В то же время в США, по меньшей мере, 1 ребенок на 1000 рождается с двусторонней тугоухостью средней и тяжелой степени,

что, по мнению Smith R. (2005), в 3 раза чаще синдрома Дауна, в шесть раз чаще *spina bifida*, и в 50 раз чаще фенилкетонурии. По данным ряда исследователей в Италии в среднем выявляется 3 ребенка с двусторонней глухотой на 1000 обследованных (Saraccio P., Ottaviani F., Cuccarini V. et al., 2005), в Греции - у 1,5 -6,0 (Kokotas H., Van Laer L., Grigoriadou M. et al., 2008), в Бразилии - 2,3 на тысячу младенцев (Lattig M.C., Gelvez N., Plaza S.L. et al., 2008).

С возрастом частота детей с нарушениями слуха увеличивается. По мнению A. Davis et al. (2003) с увеличением возраста на 10 лет количество лиц с нарушением слуха удваивается и при этом слух ухудшается на 20 дБ. По данным российских авторов если среди детей ясельного возраста показатель тугоухости составил 0,64 на 1000, то среди детей детских садов - 1,54, а среди школьников в возрасте 7-14 лет - 2,75 (Осетрова А.А. и соавт., 2010; Мурзабаева С.Ш. и соавт., 2005; Коваленко С.Л., 2008; Зинченко С.П. и соавт., 2007.). По зарубежным данным уже к возрасту 9 лет отмечается 3 случая тяжелой тугоухости на 1000 детей (Albert S., Blons H., Jonard L. et al., 2006).

Так, P.C. Stacey, H.M. Fortnum et al. (2006), изучив распространенность тяжелой стойкой детской тугоухости (более 40 dB на 0,5, 1, 2, и 4 кГц) и результаты универсального скрининга новорожденных в Англии, показали, что она увеличивается к возрасту 9 лет, причем уровень нарушений слуха оказался выше, чем в ранее проводимых исследованиях и при скрининге детей в возрасте 3 лет. Распространенность стойкой детской тугоухости в Объединенном королевстве составляла 1,33 на 1000 новорожденных. Хотя ранее считалось, что в дальнейшем к ним присоединяются еще 16% случаев нарушений слуха, выявленных позже, авторы показали, что на самом деле дополнительно выявляются от 50 до 90% детей, а уровень стойкой детской тугоухости составляет 1,65-2,05 на 1000 новорожденных среди детей 9 лет.

Генетико-эпидемиологические исследования наследственных форм тугоухости в России были проведены в Республике Чувашия,

Ростовской и Кировской областях. Оно направлено на этиологическую дифференциацию аномалий развития слухового аппарата и изучение конкретных генетических факторов, которые могут вызвать нарушения слуха. Была предложена пренатальную диагностику с учетом распространенности наиболее частых мутаций по нейросенсорной тугоухости в популяции, что создаст основу для профилактики наследственной тугоухости и глухоты (Зинченко Р.А. и др., 2009; Шокарев Р.А. и др., 2005)

Согласно выборочной статистике в России, насчитывается 13 млн. больных с нарушениями слуха, в том числе более 600 тысяч детей и подростков. Проведенные генетико-эпидемиологические исследования различных форм тугоухости в Республиках Чувашия и Саха (Якутия), Ростовской и Кировской областях выявило значительные различия полученных результатов не только между собой, но внутри каждой области. Так, если распространенность врожденной тугоухости и глухоты в целом по Российской Федерации составляет 1 на 650-1000 новорожденных детей, то в Республике Саха (Якутия) только частота наследственной нейросенсорной тугоухости достигает уровня 6,2:105. С другой стороны, суммарная распространенность тугоухости различной этиологии 10 районах Кировской области составила 1:161 жителей, с вариацией по районам от 1:266 человек в Немском до 1:69 – в Богородском районах (Зинченко С.П. и др., 2007; Шокарев Р.А. и др.; 2005, Барашков Н.А. 2007; Осетрова А.А. 2011) (Осетрова А.А. и др., 2010).

По данным С.С. Агзамходжаева (1989) на территории Узбекистана в 1988 г. нейросенсорные нарушения слуха у детей на уровне глухоты и тугоухости III степени наблюдались с частотой 9,7 на 10 тыс. детского населения, что было в 5 раз выше аналогичного показателя по РСФСР. Распространенность нейросенсорных нарушений слуха среди детей в отдельных областях республики оказалась неодинаковой и колебалась от 3,25 на 10000 детского населения в Кашкадарьинской до 13,25 в Навоийской области. Причина такого факта, по мнению автора, лежит в различиях, наблюдающихся в регионах неблагоприятной

Sam DT
axborot-resurs markazi

315419

экологической обстановки, в степени изоляции населения и в уровне развития здравоохранения.

Таким образом, литературные источники свидетельствуют о высоких значениях показателей выявления у детей нейросенсорных нарушений слуха. Их распространенность в различных странах мира и даже отдельных регионах стран неодинакова, причины которых не определены и потому требуют дальнейшего изучения.

1.2. Этиологическая структура нарушений слуха у детей

Выяснение причин тугоухости является важным этапом на пути решения проблем, связанных с поиском эффективных методов профилактики и лечения этого заболевания.

По данным большинства авторов, в общей структуре заболеваний органа слуха наиболее распространенным является (от 70 до 80%) поражение звуковоспринимающего аппарата, обусловленное дегенеративными изменениями в улитке или слуховом нерве, в остальных нарушения слуха связаны с поражением звукопроводящего аппарата уха. В целом считали, что около 80% выявляемых нарушений слуха имеют нейросенсорный характер (Таварткиладзе Г.А., 2006).

Более значительный уровень выявили М.Е.Загорянская, М.Г.Румянцева, Л.Б.Дайняк (2003), установив, что среди детей также большая часть больных (91,4%) страдает нейросенсорной тугоухостью. Тогда как, её сочетание с патологией среднего уха встречалось у 7,1% детей, а кондуктивная тугоухость - только в 1,5% случаев.

Многие исследователи отмечают, что среди лиц с нарушениями слуха преобладают мужчины, полагая это за счет большей ранимости органа слуха у лиц мужского пола. Так, согласно данным А.А. Осстрова(2011), распространенность нарушений слуха среди мужчин составляет 7,91:1000, а среди женщин - 3,23:1000. В исследовании К.S. Atmos (2003) мужчины составляли 56%, а женщины - 44 среди всех глухих. По данным С.С. Агзамходжаева (1989), среди детей с нейросенсорными нарушениями слуха в Узбекистане также преобладали лица

мужского пола (54,6%).

Соответственно этиологическим причинам нейросенсорную тугоухость принято разделять на две большие группы: генетически обусловленная и приобретенная. Приобретенная тугоухость возникает в результате действия различных неблагоприятных факторов окружающей среды на плод, новорожденного или ребенка старшего возраста. Наиболее значимыми факторами риска считаются: врожденные инфекции; низкий вес при рождении; гипербилирубинемия, лечение ототоксическими лекарственными препаратами и другие.

Среди этиологических факторов тугоухости выделяют экзогенные и генетические. К экзогенным факторам относят: тератогенный механизм, последствия вирусной инфекции, воздействие лекарственных и химических препаратов и т.д. Основные факторы риска, которые могут обуславливать ненаследственную тугоухость у детей первого года жизни, достаточно хорошо изучены (Таварткиладзе Г.А. и др., 2006). С развитием молекулярной генетики и выяснением этиопатогенетических механизмов роль генетически обусловленной тугоухости постоянно возрастает.

К настоящему моменту определено, что более 60% изолированной тугоухости имеет генетическое происхождение (Griz S. et al., 2009). Известно более 140 генных локусов для несиндромальных форм тугоухости и не менее 400 синдромов, ассоциированных с нарушением слуха (Abidi O., Boulouiz R., Nahili H. et al., 2008; Han S.H., Park H.J., Kang E.J. et al., 2008).

Открытие молекулярной технологии привели к идентификации многих генов, ответственных за наследование болезней органа слуха (Kitamura K., Takahashi K., Tamagawa Y. et al., 2000).

Приобретенная потеря слуха у детей наиболее часто возникает в результате пренатальных инфекций обобщенно называемых TORCH-инфекцией (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирус, герпес и др.). Такое мнение появилось на основе результатов исследований, продемонстрировавших, что частота рождения детей

с нарушениями слуха в период эпидемии краснухи становилось значительно более высокой, чем во все предыдущие и последующие годы. Аналогично, влияние коревой инфекции на плод также могло быть прослежено только в период эпидемии кори у неиммунного населения (Avraham K.B., 2003; Bayazit Y.A., 2006).

Высокой нейротропностью обладают и вирусные инфекции (вирусы паротита, цитомегаловирус и другие), протекающие в ряде случаев бессимптомно, что по данным многих авторов может часто не распознаваться и быть связанным с вариабельной флюктуирующей нейросенсорной тугоухостью (Birkenhager R., Aschendorff A., Schipper J. et al., 2007).

Большое значение в происхождении врожденных нарушений слуха придается гриппу, перенесенному матерью во время беременности. В то же время удельный вес врожденного сифилиса (0,4%) и врожденного токсоплазмоза (0,07%) среди причин нарушений слуха у детей очень невелик (Braga M.C., 2000).

В постнатальном периоде наиболее частой причиной нарушений слуха у детей являются инфекционные заболевания (25,3%: корь (9,6%), менингит (5,1%), грипп (5,1%), паротит (3,5%), скарлатина (1,3%) и другие инфекции (0,7%) (Шахова Е.Г., 2008). В целом, инфекционные заболевания как этиологический фактор нарушений слуха выявлялись у 30% больных, хотя по данным некоторых авторов частота инфекционных поражений слуха составляла только 6,6% (Ходжаева К.А., 2005; Хатамов Ж.А., Насретдинов Т.Х., 2006; Хакимов А.М., Шомахмадов У.Ш., 2005).

Ряд авторов, среди постнатальных инфекций, способных привести к нарушениям слуха, большую роль приписывают гриппу и острым респираторным заболеваниям, согласно данным которых этими инфекциями обусловлено не менее 12,5%-20% (Панахиан В.М., 2007; Омонов Ш.Э. Дадашев Ш.Т., 2005).

Некоторые инфекции, в частности, бактериальные менингиты, вызываемые *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* или *Streptococcus pneumoniae*, могут привести к полной потере слуха в сочетании с расстройствами вестибулярной функции. По данным некоторых авторов, дефекты слуха были обнаружены у 1,5%

переболевших детей, а менингит явился причиной - 3,7% случаев детской глухоты (Коваленко С.Л., 2008).

Существенная роль в возникновении патологии слуха принадлежит гнойным заболеваниям уха - отитам. Так, по данным Х.Э. Карабаева (1998), снижение остроты слуха довольно часто отмечается среди детей, перенесших гнойные заболевания уха. Заболеваемость населения средними отитами неравномерная и увеличивается соответственно возрастным группам, составляя: для взрослых 13,7 случаев на 1000, для подростков - 8,7, для детей - 6,7. При этом, слуховые нарушения при гнойном среднем отите могут иметь кондуктивный или смешанный характер, нейросенсорный компонент, которых обусловлен токсическим влиянием продуктов жизнедеятельности и распада микробов, а также лекарственных препаратов на внутреннее ухо (Загорянская М.Е., Румянцева М.Г., Дайняк Л.Б., 2003).

Среди факторов риска в специальной литературе лучше учитывались широко распространенные заболевания неинфекционного генеза (соматические, посттравматические, сосудистые), которые влияют на функцию внутреннего уха (Маматкулов Х.М., Мухсинова М, Кулдашева Н., 1997; Маткулиев Х.М., Маткулиев К.Х., 2006; Махкамова Н.Э., 2005). В перинатальном периоде жизни ребенка наиболее важными из них считаются тяжелые токсические и гипоксические состояния. Так, многие авторы рекомендовали учитывать как фактор риска по врожденной тугоухости анемию матери во время беременности и резус-конфликт, требующий заменного переливания крови (Коваленко С.Л., 2008). Ряд исследователей отмечают, что нарушение слуха у детей, перенесших гемолитическую болезнь новорожденных на почве резус-конфликта, носит врожденный характер и имеет центральный генез из-за повреждения ядра Ш нерва (Загорянская М.Е., Румянцева М.Г., Дайняк Л.Б., 2003; Беличева Э.Г., 2008; Арифов С.С., 2003).

Одной из возможных причин врожденной глухоты центрального генеза считают патологические роды, к которым относятся: преждевременные, затяжные роды, родовая травма,

асфиксия. Затяжные роды, продолжающиеся более 30 ч, способствуют возникновению глухоты, особенно если они сочетаются с травмой или гипоксией новорожденного. Родовая травма может быть причиной кровоизлияния в мозг. Частота дефектов слуха родового происхождения колеблется в разных исследованиях от 3,9% до 6,2%. Так же фактором отиатрического риска, может выступать даже низкий вес при рождении (Агзамходжаев С.С., 2006; Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А., 2003; Богомильский М.Р., Чистякова В.Р., 2005).

Применение лекарственной терапии в период беременности и родов также может оказать негативное влияние на орган слуха плода и привести к врожденной патологии слуха, приобретенной во внутриутробный период развития ребенка (Беличева Э.Г., 2008).

Как результат многочисленных исследований, были выделены маркеры перинатальных повреждений центральной нервной системы и органа слуха у новорожденных и детей раннего возраста, к которым отнесены:

- демографические (возраст матери, акушерский анамнез);
- материнские (хронические заболевания и вредности: алкогольная, наркотическая, никотиновая зависимость и т.д.);
- плод-материнские (Rh-фактор, вирусные, внутриутробные инфекции, прием фармакологических препаратов);
- плацентарные (нарушение кровообращения, отслойка плаценты);
- родовые (асфиксия, гипоксия, патология родового акта);
- неонатальные (масса тела при рождении, оценка по шкале Апгар, респираторные, сердечно-сосудистые и другие нарушения) (Альтман Я.А., Таварткиладзе Г.А., 2003; Богомильский М.Р., Чистякова В.Р., 2005).

Надо также отметить, что генетически обусловленные нарушения слуха чаще всего возникают во внутриутробном периоде. При врожденной глухоте у пробанда повторные случаи нарушений слуха удается выявить в 22,9-27,0% семей, а при постнатальной - только у 2,2% (Маркова Т.Г., 2008).

В более старшем возрасте потерю слуха чаще связывали с внешне средовыми факторами, например с воздействием шума. Большие дозы ототоксических антибиотиков и длительный период лечения также вызывают нарушения слуха и в этом случае тугоухость можно считать приобретенной. Однако в ответ на воздействие равнозначных экзогенных факторов нейросенсорная тугоухость развивается не всех людей. Так, установлена индивидуальная чувствительность к шуму, поскольку тугоухость развивалась только у 10-30% подвергавшихся такому воздействию. Аналогично, лечение аминогликозидами приводило к тугоухости лишь 6 - 25% пациентов (Беличева Э.Г., 2008).

Принимая во внимания факт, что частота воздействия отопатогенных факторов на человека значительно выше, чем количество появления НСТ (в том числе внезапной), можно говорить о существовании определенной группы с повышенным риском. По мнению ряда авторов, эти люди имеют дефект эндогенной природы и, попадая в неблагоприятные условия внешней среды, теряют слух. Например, появление стойкого нарушения слуха у детей после кратковременного приема терапевтических доз ототоксических препаратов свидетельствует о существовании определенной предрасположенности, возможно наследственной (Панахиан В.М., 2004).

По мнению Э.Г. Беличевой (2008), нейросенсорная тугоухость является генетически гетерогенным заболеванием, на характер которого влияет фенотип больного, отражающий индивидуальные гомеостатические возможности.

Сегодня уже показано, что ряд поздних нарушений слуха связаны с моногенной патологией, другие имеют в своей основе результат взаимодействия определенных экзогенных факторов и измененного генотипа, то есть являются мультифакториальными (Pfister M., Akyildiz S., Gunhan O. et al., 2003).

Для человеческой популяции свойственны факторы динамики: мутации, отбор, миграция, изоляция. У человека, кроме географических, действуют специфические социальные

изолированные факторы: расовые, религиозные, кастовые, имущественные, профессиональные обычаи и родственные браки.

К воздействию факторов генетического характера можно отнести ряд выявленных феноменов, одним из которых является более частое обнаружение нарушений слуховой функции в сельских районах, чем в больших городах. Так, среди сельских школьников Канады, обнаружено снижение слуха, требующее реабилитационных мероприятий, на 25% больше, чем у городских детей (Petit С., 2006). Аналогичное было обнаружено и среди сельского населения Украины, где люди с выраженным снижением остроты слуха составили 0,6% среди всех обследованных лиц (Лифанов В.П., Козаренко М.К., 1975). Полагают, что более высокая распространенность нарушений слуха сельского населения обуславливается, главным образом, высоким коэффициентом инбридинга в сельских популяциях по сравнению с городскими.

Кровнородственные браки (инбридинг) являются значительным фактором для развития у потомства различных заболеваний наследственного характера в силу накопления отдельных генетических мутаций, хромосомных aberrаций, аутомно-доминантных и мультифакториальных патологий. При этом, в инбредных семьях редкие рецессивные гены более чаще оказываются в гомозиготном состоянии, относительно панмиксной популяции, а сама роль инбридинга в манифестации заболевания возрастает с урежением выявления этих генов в популяции. Как следствие кровнородственные супруги могут обладать одним и тем же геном, унаследованным от общего предка, и среди потомков таких браков по сравнению с потомками аутбредных браков наблюдается более высокая частота выщепленных аномальных генов. Если это четко демонстрируется для моногенных заболеваний 239, то для мультифакториальных – оно менее заметно. Вместе с тем, в соответствии с теорией наследуемости и инбридинга для последних влияние инбридинга становится более заметным в случаях большей значимости главного гена в детерминации заболевания, что может даже служить тестом для выявления эффекта главного гена в структуре

предрасположенности. В целом неблагоприятные последствия инбридинга выражаются в более высоких показателях заболеваемости среди потомков родственных браков относительно детей неродственных лиц. Так по данным различных авторов, кровнородственные браки способствуют увеличению пренатальной детской смертности, частоты наследственных болезней, врожденных уродств, более тяжелому клиническому течению заболевания (Бузруков Б.Т., 2008; Гинтер Е.К., 2003).

Отдельно следует отметить возможность браков между глухими людьми, которая в свое время сыграла большую роль в распространении определенных форм глухоты и появлению больших родословных. В настоящее время ассортативные браки также являются основной причиной высокой частоты патологических аллелей (Petit С., 2006).

К первым описаниям семейных агрегаций некоторых заболеваний можно отнести наблюдения Авиценны, проведенные более 1000 лет назад на территории Узбекистана, где был отмечен факт передачи из поколения в поколение «семейного» заболевания глаз в данном роду или племени при заключении браков между ближайшими родственниками больных. Для народов Центральной Азии инбредные браки не были случайным фактором и в те времена, поскольку считается, что инбредность была характерна для исповедующих «Авесто» - священную книгу зороастризма, являвшейся религией распространенной на территории нынешнего Узбекистана до завоевания её арабами (до VII века нашей эры) 60. С принятием ислама браки у узбеков стали заключаться согласно шариату – свода правил имеющих юридическую силу. По шариату нельзя заключать браки между родственниками по восходящей и нисходящей прямой линии, даже между мачехами и падчерицами, не могли вступать в брак родные (даже молочные) братья и сестры, дяди и племянницы. Однако шариат не запрещал браки между двоюродными сибсами и поскольку они позволяли сохранить в целостности имущество братьев, избавляли родителей от расходов на выкуп невесты или приданное, это становилось довольно распространенным явлением.

Было отмечено, что в популяциях с высоким коэффициентом инбридинга частота кровнородственных браков между родителями, дети которых страдают нарушениями слуха, может достигать до 35-50% (Pfister M., Akyildiz S., Gunhan O. et al., 2003).

Соответственно данным V съезда педиатров Узбекистана, уровень рождаемости в республике остается одной из самых высоких в мире, не менее значительным является и эндогамность населения (89-90%) из-за его малой мобильности, в результате чего большинство выходцев из определенных регионов со стабильным составом населения часто оказываются дальними родственниками, даже не подозревая об этом.

По данным некоторых авторов, в ряде регионов страны высокий уровень кровнородственных браков поддерживает распространение рецессивных форм несиндромальной тугоухости. В семьях с моносимп-томатическими наследственными дефектами слуха в Хорезмской и Самаркандской областях величина имбридинга в 3-4 раза превышала таковую для узбекской популяции в целом, однако синдромы, включающие нарушения слуха, встречались в семьях, проживающих в разных районах и не связанных родством (Агзамходжаев С.С., 2006).

Следовательно, существующее в узбекской популяции состояние инбридинга и высокая рождаемость диктует необходимость более глубокого и разнопланового клинико-генетического изучения данного феномена для выработки специфического регионального подхода к проблеме детерминированности нейросенсорной тугоухости.

1.3. Роль наследственных факторов в генезе развития нейросенсорной тугоухости у детей

В научно-практической литературе ранней детской тугоухости и глухоте всегда отводилось особое место. Долгое время на вооружении специалистов были только клинические методы исследования, и работа с родословными. Интерес к врожденной и ранней детской тугоухости сталкивался с ограниченными возможностями изучения клинических и морфологических данных.

Первоначально давалось клиническое описание патологии и накопление данных о семьях, страдающих нарушением слуха, составление подробных родословных. Дальнейшие попытки выявить биохимические, цитогенетические и другие маркеры этой патологии не дали ожидаемого результата.

В большинство случаев выяснение семейного анамнеза позволяет предполагать возможность наследственного характера заболевания, например, при повторении нарушений у брата или сестры. Точное же установление причины при спорадических случаях тугоухости затруднено из-за чрезвычайной гетерогенности генетически обусловленной моногенной глухоты (Бузруков Б.Т., 2008; Гинтер Е.К., 2003).

Больные с нарушениями слуха часто вступают в брак избирательно - с людьми, также имеющими нарушения слуха. И если бы существовал только один ген, способный в гомозиготе привести к глухоте, то все дети, родившиеся от брака двух глухих лиц, также были бы глухими.

Однако, в ряде исследований супружеских пар, в которых оба родителя были глухими, показано, что только в 14% таких семей все потомство имело дефект слуха, а 70% детей, рожденных от глухих родителей, имели нормальный слух. При этом, считают, что риск рождения ребенка с нарушением слуха от двух глухих родителей не превышает 27%, прежде всего из-за такого факта, что браки между людьми с несходными рецессивными формами дают потомство с нормальным слухом (Petit C., 2006).

Это проявляется в различном типе наследования и подтверждается появлением нормально слышащих потомков в браках между рецессивно глухими родителями, а также несоответствием между широким распространением рецессивной глухоты среди населения и повышенной частотой кровного родства среди родителей, пораженных (Журавский С.Г., 2006).

Развитие генетического мышления в медицине в начале и середине 20 века позволило разделить нарушения слуха на несиндромальную тугоухость, которая не сопровождается изменениями в других органах и синдромальные формы

тугоухости. При этом, несиндромальные формы характеризовались только потерей слуха, а синдромальные характеризовались сочетанием нарушения слуха и патологией других органов и систем (заболевания щитовидной железы, органа зрения, нарушение пигментации).

Клинико-аудиологическое изучение несиндромальной тугоухости столкнулось со значительными трудностями, поскольку ограничивалось описанием родословных, выяснением типов наследования и попытками проведения сегрегационного анализа. Невозможность объективной диагностики несиндромальных форм в свое время привела к отсутствию к ним живого интереса. В результате чего, наследственный фактор в этиологической структуре детской тугоухости, по данным Загорянской М.Е. с соавт.(2003), составил в разные годы 19,7% и меньше (10%).

Нужно отдать должное наблюдательности клиницистов, благодаря которым было доказано существование клинических признаков, связанных с тугоухостью и передающихся совместно по наследству. Доказано, что аутомно-рецессивная НСТ в большинстве случаев начинается в доречевом периоде или имеет врожденный характер и не прогрессирует. Для заболеваний с аутомно-доминантным типом наследования характерно позднее начало, после 6-10 лет и прогрессирующее течение, хотя были описаны аутомно-доминантные формы тугоухости и с началом в доречевой период. К примеру, доминантные мутации в генах *Sx3O*, альфа-текторина, гена альфа2-цепи коллагена XI типа могут обуславливать тяжелые доречевые нарушения слуха (Evirgen N., Solak M., Derekoу S. et al., 2008). Вместе с тем, рецессивные мутации в гене трансмембранной сериновой протеазы выявлены при после речевой прогрессирующей тугоухости (Бузруков Б.Т., 2008).

По мнению японских исследователей, подтвердивших общую гипотезу о корреляции генотипа и фенотипа, существует ряд определенных правил, согласно которым лица с определенным генотипом, за редким исключением, склоны иметь похожие

аудиограммы, а поэтому генотип является основным фактором в предсказании фенотипа (Iwasaki S., Harada D., Usami S. et al., 2002).

Однако, возможные фенотипические различия между пациентами с одним генотипом, по их мнению, могут быть связаны с другими генетическими факторами (изменения в области промотора гена, дополнительные изменения таких генов как Cx30, влияние модифицирующих генов) или с влиянием факторов окружающей среды.

В случаях если две разные мутации находятся в одном аллеле гена или в разных аллелях одного гена, это приводит к вариациям в фенотипе от нормы до глухоты. Когда же мутации расположены на двух разных аллелях гена, развивается тяжелое нарушение слуха (Evirgen N., Solak M., Derekooy S. et al., 2008; Joseph A.Y., Rasool T.J., 2009).

Установлено, что основным фенотипическим проявлением изменений в гене Cx26 считается глухота, которая в среднем составляет 50% группы с измененным генотипом, тогда как тугоухость IV степени - 30%, а II и III степени - 20%. Очень редко, менее 2%, в проведенных исследованиях встречалась легкая степень тугоухости. Одновременно с этим в приведенных статьях отсутствуют сведения о возможном прогрессировании тугоухости при инактивирующих мутациях гена Cx26.

Согласно общим представлениям, коннексиновые каналы обладают строгой селективностью к молекулам с определенным зарядом, поэтому мутации в гене Cx26 «могут» индуцировать специфические, непоправимые нарушения в процесс передачи межклеточных сигналов и энергии, приводящие к дегенерации клеток и нарушению слуха. И эти нарушения должны привести к потере слуха у ребенка еще до рождения, поскольку коннексиновые каналы в норме сформировываются уже на 20 неделе внутриутробного развития плода (Журавский С.Г., 2006).

Тем не менее, есть сообщения, что для тугоухости, связанной с делецией 35delG, характерен «относительно сохранный слух на момент рождения, а в дальнейшем от 0,5 до 1-3 лет быстрая прогрессия с минимальной последующей динамикой». По

результатам обследования пациентов различного возраста с тяжелой нейросенсорной тугоухостью, было сделано заключение о сохранном слухе у новорожденных гомозигот по делеции 35delG (Evirgen N., Solak M., Derekoу S. et al., 2008).

С другой стороны, чтобы доказать возможность прогрессирования заболевания должна быть исследована группа детей с известным генотипом с ранней детской тугоухостью не ниже III степени, потерявших слух вплоть до глухоты в течение не более года. Так же эти дети не должны иметь сопутствующих заболеваний за это время. А поскольку выполнить такие условия довольно трудно, этот вопрос пока остается открытым.

Вместе с тем, точное предопределение степени нарушения слуха по генотипу пока еще тоже затруднено. В настоящее время для оценки состояния больных исследователи вынуждены опираться лишь на результаты клинических исследований, проведенных во многих странах среди пациентов прошедших ДНК-диагностику гена *Cx26*.

Хотя в ряде работ представлены данные по изучению факторов, которые модифицируют фенотипические эффекты патологических генотипов, вследствие чего отмечаются менее выраженные или, наоборот, более тяжелые нарушения слуха (Snoeckx R.L., Huygen P.L., Feldmann D. et al., 2005; Rehm H.L., 2005; Evirgen N., Solak M., Derekoу S. et al., 2008).

Основным вопросом, волнующим исследователей в современный период стало число возможных генов, приводящих к нарушению слуха. Благодаря широкому обсуждению в литературе и преемственности научных данных, крупные семьи стали объектом изучения на молекулярном уровне.

С появлением молекулярно-генетических методов данные, накопленные клиницистами, позволили довольно быстро открыть большинство генов, мутации в которых приводят к глухоте. Наличие уже обследованных семей способствовало быстрому обнаружению патологических мутаций в тех генах у пациентов, которые были ранее открыты при изучении моделей тугоухости у животных, что подтверждало генетическую природу тугоухости

(Siemering K., Manji S.M., Hutchison W.M., 2006; Schrijver I., 2006; Schapira A.H., 2006).

Исследованиями установлено, что для клинического проявления рецессивного гена необходимо наличие двух патогенных мутаций у одного человека, тогда как у его родителей может выявляться лишь одна мутация. При этом носительство известных рецессивных генов у здоровых родителей может установить только ДНК-диагностика.

Для проявления заболевания при доминантных формах достаточно одной мутации, но один из родителей больного ребенка должен иметь нарушение слуха и измененный генотип. В случаях малого размера семьи, отсутствия сведений о других родственниках или если данный случай является единственным в семье, родословная не всегда может дать необходимую информацию (Schrijver I., 2006).

На сегодняшний день молекулярная диагностика является единственным средством адекватной диагностики несиндромальной тугоухости, особенно при отсутствии данных родословной. Сейчас уже не вызывает сомнения тот факт, что наследственные формы тугоухости/глухоты представляют собой генетически и клинически гетерогенную группу заболеваний, что составляет основную сложность диагностического процесса. В целом при наследственных формах нарушений слуха отмечаются все типы наследования, включая X-сцепленный и митохондриальный. Но в структуре врожденной тугоухости преобладает аутомно-рецессивный тип наследования, на долю которого приходится до 80% всей несиндромальной НСТ (Piatto V.B., Nascimento E.C., Alexandrino F., 2005).

Соответственно схеме R.Smith (2005) (рис. 1.1) до 50% всей врожденной и доречевой детской тугоухости имеют приобретенный характер, а остальная тугоухость обусловлена изменениями в генах. Наследственные нарушения слуха включают до 15% синдромальных форм и 35% несиндромальных форм тугоухости в общей группе.



Рис.1.1. Структура врожденной тугоухости/глухоты по R. Smith

Причем среди последних аутосомно-рецессивные формы составляли 28%, аутосомно-доминантные - 7%, а X-сцепленные и митохондриальные нарушения слуха не более 1%. Идентификация патологических мутаций в семьях с разными формами наследственной тугоухости позволила описать клинические проявления при изменениях в различных генах (Piatto V.B., Nascimento E.C., Alexandrino F., 2005; Petersen M.B., Willems P.J., 2006).

Однако были и доказательства того, что разные изменения в одном и том же гене приводили к развитию двух разных форм несиндромальных нарушений слуха, как было установлено при исследовании причин тугоухости в семьях из Франции и Туниса. Оказалось, что причина лежит только в мутациях гена GJB2, кодирующего белок P-2 щелевых контактов или межклеточных каналов - коннексин 26 (Petersen M.B., Willems P.J., 2006; Pfister M., Akyildiz S., Gunhan O. et al., 2003).

Поэтому выраженная генетическая гетерогенность нарушений слуха в настоящее время считается главной проблемой точной диагностики причин тугоухости. Несколько виды моногенных форм тугоухости могут проявляться и во второй и третьей декаде жизни. Показано, что «поздние» формы тугоухости также генетически гетерогенны (Piatto V.B., Nascimento E.C., Alexandrino F., 2005).

Для определения места расположения на хромосоме гена-кандидата на роль гена «глухоты» в названиях локусов сцепления стали использовать специальные обозначения: буквы DFN - сокращение от английского «deafness» - глухота, далее указывали букву, соответствующую типу наследования тугоухости в семье, и номер локуса, который отражал очередность его открытия. Так, DFNA1 - это первый локус аутосомно-доминантной глухоты, DFNB1 — первый локус аутосомно-рецессивной глухоты, DFN1 - первый локус X-сцепленной тугоухости. Так, локус DFNB1 - первый локус аутосомно-рецессивной тугоухости, картированный на длинном плече 13 хромосомы, локус 13q12, впервые был выявлен в 1994 году в крупной семье из Туниса с высоким уровнем кровного родства. В этой же области был картирован третий локус аутосомно-

доминантный тугоухости, DFNA3, благодаря анализу сцепления в большой Французской семье, страдающей доминантной доречевой НСТ (Kitamura K., Takahashi K., Tamagawa Y. et al., 2000)

Отсутствие или повреждение даже одной белковой единицы является достаточным для нарушения сенсорных преобразований в такой тонкой и точной системе, как орган Корти. Поэтому неудивительно, что при наследственных нарушениях слуха обнаружены мутации в генах, кодирующих мембранные, регуляторные и структурные белки внутреннего уха.

При изучении экспрессии новых генов, кодирующих белки внутреннего уха, обнаружено различное распределение белковых продуктов в структурах улитки. С точки зрения функции органа слуха сегодня выделяют две важные генные сети. Первая включает гены, регулирующие гомеостаз калия в улитке, очень важный для реполяризации и восстановления потенциала волосковых клеток. Первоначальная деполяризация волосковых клеток обеспечивается при поступлении ионов калия из эндолимфы внутрь этих клеток.

Возвращение калия в эндолимфу улиткового хода происходит благодаря пассивной диффузии через коннексиновые каналы поддерживающих клеток в направлении к сосудистой полоске улитки. Белок коннексина 26, как главная структурная единица межклеточных каналов, обеспечивает прямой обмен ионами K⁺, малыми сигнальными молекулами (ц-АМФ, инозитол) между соседними клетками. *Stria vascularis* улитки благодаря специальным K⁺ каналам, сформированным белковыми продуктами генов KCNQ1 и KCNE1, секретирует калий обратно в эндолимфу. В ионном транспорте также участвуют белковые продукты генов пендрина, других коннексинов, клаудина 14 (Piatto V.B., Nascimento E.C., Alexandrino F., 2005; Kitamura K., Takahashi K., Tamagawa Y. et al., 2000).

Аутосомно-рецессивные несиндромальные формы тугоухости в 50% сцеплены с локусом DFNB1 (гены коннексинов Cx26 и Cx30).

Ген Cx26 состоит из двух экзонов, причем кодирующим является только второй, размером менее трети от общей длины гена. Белок коннексина или белок щелковых контактов представляет собой

высокоспециализированную структуру, создающую каналы для прямого межклеточного обмена ионами, метаболитами и сигнальными молекулами небольшого размера, быстрое распространение электрического сигнала и синхронизацию активности в возбудимых тканях.

Два коннексона - гексамерные структуры, сформированные из шести коннексинов в результате олигомеризации, по одному от каждой клетки, могут объединяться, образуя межклеточный канал (Kitamura K., Takahashi K., Tamagawa Y. et al. 2000; Viceso M., Beltramello M., Melchionda S. et al., 2006)

Он имеет 2 внеклеточных участка (E1-E2), 4 внутри мембранных участка (M1-M4) и 3 цитоплазматических участка (C1-C3), из которых третий трансмембранный участок (M3) вместе подобными ему участками шести других белков образуют стенку канала в мембране клетки (рис. 2).

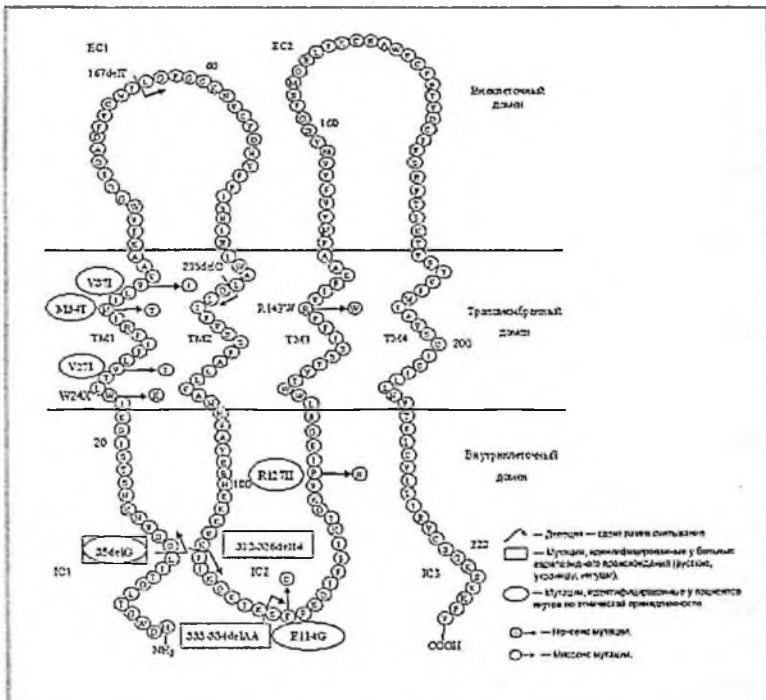


Рис.1.2. Структура белка коннексина 26

IC1, IC2, IC3 - внутриклеточные домены, TM1, TM2, TM3, TM4 — трансмембранные домены, EC1 и EC2 - внеклеточные домены.

В 63% хромосом, имевших сцепление с локусом DFNB1, была найдена одна единственная мутация, которая характеризовалась делецией одного из шести последовательно расположенных дезоксигуанозинов (G-оснований) в положении 30-35 гена GJB2. Первоначально мутацию обозначали как 35delG или 30 delG, вскоре утвердился первый вариант. Обе мутации приводили к образованию стоп-кодона и преждевременному прекращению синтеза белковой цепи. На сегодняшний день известно более 100 мутаций (около 10 доминантных и более 90 рецессивных мутаций) в гене коннексина 26 (GJB2) и около 10 мутаций в гене коннексина 30 (GJB6), являющихся основной наследственной причиной повреждения процесса звуковосприятия у человека и описаны клинические проявления (Bhalla S., Sharma R., Khandelwal G. et al., 2009).

Основной патогенетический механизм при мутации 35delG связан с полным отсутствием нормальной белковой субъединицы. Хотя коннексин 26 обнаружен во всех органах и тканях, но его изменения в значительной степени отражаются только на органе слуха. Отсутствие поражения других органов объясняется тем, что в отличие от других тканей во внутреннем ухе не происходит замены белка Cx26 на другой тип коннексина. В органе Корти обнаружена экспрессия лишь нескольких видов коннексиновых белков (Cx26, Cx30, Cx31, Cx32 и Cx43) (Шокарев Р.А., Амелина С.С., Зинченко Р.А. и др., 2006; Шаронова Е.И., Осетрова А.А., Зинченко Р.А., 2008).

Для выделения генетически однородных групп при диагностике несиндромальной тугоухости определенным ориентиром служат частотные характеристики потери слуха (выпадение низких, средних или высоких частот) и прогрессирование. В этом отношении пять мутаций митохондриальной ДНК, наследуемых по материнской линии, первоначально связывали с несиндромальной тугоухостью. Однако,

при более тщательном обследовании для 3 из 5 мутаций, были найдены дополнительные симптомы, сопровождающие снижение слуха (Журавский С. Г., Тараскина А. Е., Курусь А. А., Иванов С. А., Гринчик О.В., Джемилёва Л. У., Хуснутдинова Э. К., 2009; Bhalla S., Sharma R., Khandelwal G. et al., 2009).

Безусловно основными клиническими проявлениями мутаций в гене GJB2 являются врожденные нарушения слуха и преобладание выраженной степени тугоухости. Однако, некоторые миссенс-мутации (M34T, V37I, V27I, E114G и т.д.) могут приводить к умеренным и легким формам тугоухости, а в ряде случаев описываются как полиморфные варианты (Cremers F.P., 1998 ; Cremers F.P., Kimberling W.J., Kulm M., 2006; Snoeckx R.L., Huygen P.L., Feldmann D. et al., 2005).

При врожденной sporadicческой тугоухости/глухоте две трети нарушений в гене Sx26 были связаны только с одной мутацией - 35delG. Эта мутация оказалась наиболее частой среди пациентов большинства стран Европы, северной Африки, Новой Зеландии, США. Среди всех мутаций, обнаруженных в гене Sx26 она составляет от 55% до 88%. Высокая частота гетерозиготного носительства мутации 35delG в гене Sx26 среди здорового населения определяет важность ее выявления для профилактики врожденной тугоухости, однако вместе с этим были обнаружены и существенные различия в частоте данной мутации в разных странах (Cremers F.P., Kimberling W.J., Kulm M., 2006; Snoeckx R.L., Huygen P.L., Feldmann D. et al., 2005; Журавский, С. Г., Тараскина А. Е., Курусь А. А., Иванов С. А., Гринчик О.В., Джемилёва Л. У., Хуснутдинова Э. К., 2009).

Установлено, что в Европе частота носительства мутации 35delG варьирует от 1/31 (в средиземноморском регионе) до 1/71 в странах Скандинавии, что в среднем составляет 1/51 (2%). В Италии и Греции частота носителей среди населения составляет более 3,5-4%. Поэтому глухота, обусловленная гомозиготным состоянием делеции, может выявляться в 1 на 2500 новорожденных в данных популяциях. Еще меньшее число гетерозиготных носителей данной мутации обнаружено в средне восточной части

США, уровень которого оказался равен 2,5%. Общий уровень носителей для всех мутаций гена *Cx26*, приводящих к развитию глухоты, в США составляет 3,01% (2,54% - 3,56%). В азиатских популяциях (Япония, Корея, Китай, Индия, Тайвань и другие) ни одно из исследований не выявило мутацию 35delG среди глухих пациентов. Низкий уровень данной мутации, менее 10%, отмечен среди глухих в Австралии, Бразилии, Англии, Германии (Bicego M., Beltramello M., Melchionda S. et al., 2006; Bhalla S., Sharma R., Khandelwal G. et al., 2009).

В Турции причиной тяжелой нейросенсорной тугоухости лишь в 14,9% случаев была мутация 35delG, из которой только в 8,5% случаев была в гомозиготной форме, тогда как мутации 167delT и 235delC вообще не детектировались (Evirgen N., Solak M., Derekoy S. et al., 2008).

В России проблемой мутации гена коннексина и митохондриальной ДНК стали заниматься в последние несколько лет. Т. Г. Маркова и др. [20] сообщают о проведении ряда исследований среди детей с врожденной и ранней детской тугоухостью, выявлении значительной распространенности генетических нарушений. С. Г. Журавский и др. (2005) указывают на высокую частоту гетерозиготного носительства наиболее частых мутаций гена *GJB2* (35delG, 167delT, 235delC).

Первые исследования по изучению распространенности мутации 35delG в России среди детей с нарушениями слуха показали, что доля мутации 35delG составила 82% среди всех мутаций в локусе *DFNB1*. Мутация была выявлена у 72% пациентов с НСТ и отягощенным семейным анамнезом и в 42% изолированных случаев заболевания. По данным С.Г. Журавского со авт. (2009), частота мутации 35delG среди обследованной группы со спорадической доречевой тугоухостью составила 58,3%. Хотя это довольно высокий показатель, но поиск лишь одной мутации неизбежно должно сопровождаться пропуском других нарушений гена, в чем авторы убедились в ходе дальнейших исследований.

И.М. Хидиятова с со авт. (2005) изучили распространенность мутации 35delG среди 58 неродственных семей пациентов с несиндромальной НСТ с учетом национальности. Наиболее часто данная мутация встречалась у больных татарского и русского происхождения; 68,8% и 50% соответственно. Малочисленность представителей других этнических групп (башкиры, чувашаи, мордва и другие) не позволила авторам рассчитать частоту делеции среди пациентов этих национальностей.

Несколько иные результаты получены в работе Зинченко Р.А. с соавторами (2009), где авторы провели молекулярную диагностику гена Sx26 на мутацию 35delG среди 34 больных из 26 чувашских семей с установленной наследственной формой тугоухости. Низкий уровень делеции в гене Sx26 среди тугоухих пациентов, менее 10%, авторы объяснили с генетической гетерогенностью нарушений слуха.

Полученные данные, хотя и основаны на малой выборке и отражают, скорее всего, общую этиологическую картину наследственной тугоухости в регионе, по мнению Т. Г. Марковой (2008) могут дезориентировать работу с клинической группой с врожденной и доречевой тугоухостью, для которой характерен высокий уровень мутаций в гене Sx26. Однако результаты последующих более обширных исследований на территории России продолжали представлять доказательства значительных различий в частоте мутаций гена Sx26 по этническому признаку.

Так, исследования О.С. Посух с соавт. (2005), в популяции Алтайского края показали, что в среднем среди пациентов мутации в гене Sx26 обнаружены в 23,7% случаев, причем среди пациентов русского происхождения частота мутации составила 46,9% и только 8,3% среди тугоухих алтайцев-аборигенов. В здоровой популяции алтайцев выявлена высокая частота носителей мутации 235delC - 4,6%. В обследованной алтайской группе данная мутация присутствовала в 6,7% совместно с мутацией 35delG, в качестве второй мутации, являясь примером биаллельного наследования.

По данным Н.А. Барашкова (2007) у больных наследственной несиндромальной сенсоневральной глухотой из Республики Саха

(Якутия) в гене коннексина 26 (CJB2) обнаружены 6 мутаций - 35 delG (11,5%), V37I (1,5%), 333-334 delAA (0,75%), 312-326del14 (0,75%), R127H (0,75%), R98L (0,75%) и 3 полиморфных варианта - V27I (4,6%), E114G (0,75%), M34T (1,5%). При этом мутации: R98L, обнаруженная впервые, V37I и R127H выявлены только у больных - якутов, а мутации 35delG, 333-334delAA и 312-326del14 - преимущественно у больных европеоидного происхождения. Поскольку частота мутации 35delG среди европеоидной группы пациентов составила 42%, а среди больных якутов - только 2%, это подтверждает данные о высокой частоте данной мутации в популяциях Европы и ее низкой распространенности в популяциях Азии.

Уровень гетерозиготных носителей мутации 35delG в России изучен лишь в ряде регионов. Средняя частота носительства делеции по пяти регионам России составила 1/46,2. Распространенность носителей мутации при исследовании Санкт-Петербургского региона составила 5,5%. Полученные результаты резко могут различаться в зависимости от национальной принадлежности и по месту проживания (уровня миграции) россиян. Так, в Республике Саха (Якутия) частота мутации 35delG в гене коннексина 26 (GJB2) в популяции русских составила 2,8%, в популяции якутов - 0,2%, тогда как частота мутации V37I в гене коннексина 26 (GJB2) в популяции якутов достигала до 2%, а у русских она не выявлялась (Барашков Н.А., 2007). Интересно, что по полученным данным, мутация 235delC, встречающаяся в основном в популяциях Азии, не была найдена в популяции якутов, хотя возраст возникновения мутации 235delC на территории Восточной Азии был оценен исследователями в 11500 лет, а первичным ареалом распространения был указан регион оз. Байкал, населяемый в прошлом недифференцированной группой северных монголоидов. В популяциях, населяющих Центрально-азиатский регион, молекулярно-генетические исследования мутаций генов имеющих отношение к развитию тугоухости еще не проводилось.

В последние годы в ряде стран стали вводиться универсальные программы скрининга новорожденных для выявления групп риска по

нарушению слуха. Их популярность объясняется достаточной эффективностью для раннего установления тугоухости и лечебного вмешательства с целью лучшего речевого развития ребенка. В качестве последнего, в группе пациентов с глухотой, связанной с мутацией 35delG гена GJB2, замечательные результаты показала кохлеарная имплантация. Это обусловлено тем, что дети с тугоухостью, обусловленной мутациями в гене Sx26, отличаются нормальной функцией мозга и могут достигать прекрасного развития речи в процессе использования кохлеарного имплантата, тогда как у остальных детей, заболевания, без обнаружения мутации в гене Sx26, могут иметь гетерогенный характер, способные иначе влиять на речевое развитие.

Сейчас кохлеарная имплантация рекомендована для большинства нарушений слуха, подтвержденных на молекулярно-генетическом уровне, которые не имеют перспективности лечения другими методами лечения (Stacey P.C., Fortnum H.M., Barton G.R., Summerfield A.Q., 2006). Поскольку основные трудности диагностики в сурдологии всегда были связаны с определением уровня поражения: периферическое, ретрокохлеарное или центральное, тестирование генов может стать эффективным инструментом топической диагностики поражения слухового анализатора [5,21].

Принимая во внимание чрезвычайную важность молекулярного диагноза для клинической диагностики и выбора метода лечения, такие ученые, как: MBitner-Glindzicz(2002), K.S. Amos (2003), Schrijver I. et al. (2006) предложили свои варианты алгоритмов генетического тестирования лиц с нарушениями слуха. Соответственно последнему из них: первым этапом обследования является секвенирование гена Sx26. Далее в зависимости от результата анализа (рис. 1.2): обнаружение двух мутаций гена свидетельствует об аутосомно - рецессивной НСТ.

В случаях обнаружения только одной патогенной мутации в гене Sx26, или при отсутствии таковых показана диагностика крупной делеции гена Sx30, особенно при врожденной тяжелой тугоухости неясной этиологии. Выявление двух делеций в гене Sx30 говорит об аутосомно-рецессивной НСТ, хотя мутации в данном гене

без изменений в гене. При наличии одной мутации в гене Sx30 без изменений в гене Sx26 предполагается носительство мутации, наличие скрытой второй мутации или другая этиология тугоухости.

При отрицательном результате тестирования генов Sx26 и Sx30 рекомендуется тестирование гена SCL26A4 и компьютерная томография височной кости. Далее могут быть обследованы гены миозина 7A и престилина. При этом отдельно оговаривается, что молекулярному тестированию должно предшествовать тщательное клиническое обследование, выяснение семейного анамнеза с обязательным указанием этнической или национальной принадлежности (Siemering K., Manji S.M., Hutchison W.M., 2006).

Таким образом, последние 20 лет были отмечены крупными достижениями молекулярно-генетических методов, позволивших создать знания о молекулярной природе мутационных повреждений определенных генов, нарушающих функцию органа слуха, что в настоящее время имеет особую актуальность из-за недоступности специфических структур уха для рутинных лабораторных методов.

Установлено, что главной генетической причиной врожденной тугоухости оказались мутации в гене коннексина 26 (Sx26), одна из которых - делеция 35delG, выявлена до половины всех случаев несиндромальной наследственной глухоты в популяциях стран Европы и США, тогда как для остальных популяций наблюдалось превалирование других мутаций данного гена. В Узбекистане, территориально расположенном на стыке проживания Европейских и Азиатских популяций ситуация остается все еще неизвестной из-за отсутствия таких исследований.

Различными авторами описано накопление аутосомно-доминантных, X-сцепленных хромосомных аббераций, мультифакториальной патологии детей, родители которых, и они сами произошли от инбредных браков.

Генетическое значения инбридинг состоит в увеличении гомозиготности популяции, т.е. в инбредной среде редкие рецессивные гены оказываются в гомозиготном состоянии чаще, чем в большой панмиксной популяции. Причем, чем реже ген в популяции, тем больше роль инбридинга в манифестации

заболевания (Гинтер Е.К., 2003). Причина отрицательного влияния инбридинга заключается в том что, супруги могут обладать одной и той же гетерозиготной мутацией гена, унаследованной от общего родоначальника. Для медико-генетического анализа наличие инбредных браков в популяции является очень важным фактором. В поддержании высокой частоты инбридинга в популяции играют роль различные национальные, религиозные, кастовые и другие факторы (Бузруков Б.Т., 2008; Гинтер Е.К., 2003).

В силу древних национальных обычаев и традиций, а также географических условий инбредные браки у коренного населения Узбекистана – явление до сих пор довольно частое. Следствием инбридинга является более высокая частота выщепления аномальных генов среди потомков близкородственных браков по сравнению с потомками аутобредных браков. Эта закономерность четко показана для моногенных заболеваний (Гинтер Е.К., 2003). Что касается мультифакториальных болезней, то полученные для этих состояний данные не столь демонстративны. Однако, из теорий наследуемости и инбридинга следует, что чем больше значимость главного гена в детерминации мультифакториального заболевания, тем заметнее становится эффект инбридинга. Данная закономерность, наряду с другими, может служить тестом для выявления эффекта главного гена в структуре предрасположенности. Заключение браков среди народов Центральной Азии и мусульманского Кавказа с давних времен определялось своеобразными обычаями, главными из которых являлся обычай кровного родства супругов (Барашнев Ю.И., Бахарев В.А., Новиков П.В., 2004; Бузруков Б.Т., 2008).

После принятия ислама браки у народов Центральной Азии, в частности у узбеков, заключались по шариату, представляющим собой свод правил, имеющих юридическую силу. Согласно шариату, брак между самими близкими родственниками был запрещен. Нельзя было вступать в брак родственниками по восходящей и нисходящей прямой линии . воспрещались браки с мачехами и падчерицами.

Не могли вступать в брак родные: единоутробные и молочные братья и сестры. Шариат препятствовал заключению брака между дядями и племянницами. Однако браки между двоюродными сибсами приветствовались, поскольку они были связаны с экономическими и религиозными причинами, позволяли сохранить в целостности имущество братьев, избавляли родителей от лишних расходов на приданое, выкуп.

Распространенности инбридинга, кроме обычаев, способствовала высокая рождаемость, благодаря которой увеличивался круг родственников и соответственно шансы на вступление в брак по родству. С другой стороны очень малая миграция населения обуславливала эндогамные браки, где супруги в большинстве случаев тоже оказывались родственниками, хотя бы и очень далекими. Таким образом, образовывались своеобразные изоляты. Так, например, частоты инбредных браков в 31 изоляте 7 префектур Японии колеблется от 16,4% до 27,8%, а коэффициент инбридинга до 0,027; в пределах Узбекистана выявлены высокие коэффициенты инбридинга (0,02) в кишлаках с узбекским и арабским населением, также к примеру - высокий коэффициент инбридинга (до 0,089) среди населения Самаркандской области (Chen X., Cao K., Zuo J. et al., 2009; Ben Said M., Hmani-Aifa M., Amar I. et al., 2010; Агзамходжаев С.С., 1989). В Туркменистане среди коренного населения также распространены инбредные браки. Случаи выкидышей, мертворождений, недоношенности и случаев смерти детей до одного года жизни среди инбредных браков встречаются в 2-3 раза чаще, чем среди лиц, не состоящих в инбридинге. В США, где такие обычаи не распространены, частота инбридинга составляет от 0,05 до 2%; а в высокогорных селениях Швейцарии кузенные браки составляют 11,5%. Кроме сохранения обычаев, в распространении инбредных браков, по-прежнему, следует учитывать роль многодетности семей. Обычное число детей и изученных нами семьях 4-5, не редкость с 6-10 детьми. Согласно, данным V съезда педиатров Узбекистана (2004), рождаемость в Узбекистане – одна из самых высоких в мире. Очень значительным остается и степень эндогамности населения (≈ 89 -

90%), объясняющейся все еще малой его мобильностью эндогамность является важной характеристикой при выяснении инбридинга, поскольку выходцы из одной и той же местности со стабильным составом населения обычно оказываются дальними родственниками, часто не подозревая об этом.

Таким образом, состояние инбридинга, существующее у узбекской популяции, дало возможность более глубокого изучения данного феномена в разноплановом аспекте с подключением различных клинико-генетических методов исследования, что помогло бы, на наш взгляд, выработать специфический, региональный подход к проблеме детерминированности наследственной нейросенсорной тугоухости с учетом многодетности и инбредности в Узбекистане.

1.4. Современные подходы к диагностике и лечению нейросенсорной тугоухости у детей

Лечение сенсоневральной тугоухости остается актуальной проблемой во всем мире, поскольку огромное количество предложенных консервативных методов лечения не излечивает тугоухость, а дает лишь временную ремиссию с незначительной положительной динамикой в состоянии слуха. Многообразие этиологических факторов и во многом, неясность представлений о патогенезе поражения звуковоспринимающего отдела слухового анализатора, способствовали развитию в большей степени эмпирического подхода в лечении сенсоневральной тугоухости (Ходжаева К.А., 2005; Хакимов А.М., 2005).

В целом, методы лечения НСТ подразделяются на три группы: этиотропное, симптоматическое и патогенетическое. Для проведения первого при НСТ врожденного и наследственного характера необходимо учитывать этиологические факторы перинатальных повреждений центральной нервной системы и органа слуха у новорожденных и детей раннего возраста.

К ним можно отнести: как материнские (возраст матери, акушерский анамнез, хронические заболевания, алкогольная,

наркотическая, никотиновая зависимость и т.д.) и плодоматеринские (Rh-фактор, вирусные, внутриутробные инфекции, прием фармакологических препаратов, нарушение кровообращения, отслойка плаценты), так и детские родовые асфиксия, гипоксия, патология родового акта) и неонатальные (масса тела при рождении, оценка по шкале Апгар, респираторные, сердечно-сосудистые и другие нарушения) факторы (Snoeckx R.L., Huygen P.L., Feldmann D. et al., 2005; Sterna O., Prooina N., Grinfelde I. et al., 2009).

Разнородность этиологических факторов, не мешает существованию общих закономерностей механизма развития НСТ, которые в конечном итоге приводят к характерным и однотипным нарушениям слуха. При этом, важнейшими компонентами патогенеза поражений внутреннего уха являются гипоксемия и метаболический ацидоз, что связано с особенностями структуры его сосудистой системы (Каримова Н.А., 2007).

При ультразвуковом исследовании было установлено, что в ряде случаев нарушение функции ушного рецепторного аппарата и нервных афферентных проводниковых структур возникает не одновременно. При этом выраженное угнетение рецепторной функции иногда сочетается с функциональной сохранностью волокон слухового нерва [Грачев К.В., Лопатко А.И., 1993].

В настоящее время не существует одного самого эффективного метода лечения хронической тугоухости, тем не менее даже незначительное улучшение слуха у детей в результате проведения консервативной терапии, приводящей к стабилизации слуха, считается эффективным реабилитационным мероприятием.

С учетом особенностей заболевания используются средства, направленные на восстановление кровообращения, улучшение реологических показателей крови, нормализацию артериального давления, улучшение проведения нервного импульса, нормализацию микроциркуляции. Используются препараты, обладающие ангио- и нейропротективными свойствами.

Следует подчеркнуть, что даже адекватно подобранная и своевременно проведенная терапия больного нейросенсорной

тугоухостью не исключает вероятности прогрессирования заболевания под воздействием стрессовой ситуации, обострения сердечно-сосудистой патологии (например, гипертонического криза), острой респираторной вирусной инфекции или акустической травмы.

При хронической прогрессирующей тугоухости следует проводить курсы медикаментозной терапии для стабилизации слуховой функции. Медикаментозный комплекс должен быть направлен на улучшение нейрональной пластичности и микроциркуляции в области внутреннего уха.

В работах В.Т. Пальчуна даны рекомендации по лечению хронической тугоухости, подведению всех лекарственных препаратов непосредственно к внутреннему уху с целью восстановления нейронного органа Корти. В 70-е годы в лечении сенсоневральной тугоухости нашли применение биогенные вещества, значительно влияющие на биохимические процессы мозга. Это были стугерон, кавинтон, ГАМК и его производные. В ЛОР-клинике Волгоградского медицинского института был применен лекарственный препарат фенибут, который является производным ГАМК и по своей структуре близок к естественным продуктам обмена головного мозга. Больные уже на 3-4-е сутки отмечали значительное снижение шума, а к концу курса улучшался слух на 20 дБ и разборчивость речи.

С 1995 года для лечения различных форм тугоухости применяется поликатын, созданный научно-производственным объединением "Бишофит" и сотрудниками кафедры фармакологии Волгоградской медицинской академии. Препарат содержит в своем составе соли магния, фтора, хлора, брома, алюминия, титана и ряда других микроэлементов. Препарат вводили путем электрофореза эндаурально. При этом М.С. Лобзов, Н.К. Санжаровская, А.А. Спасов (1998) пришли к заключению, что происходит защита от повреждающего действия аминогликозидных антибиотиков на волосковые клетки. Увеличивается полнокровие и утолщаются сосудистая полоска и прилегающие к ней кровеносные сосуды. Поликатын способствует улучшению трофики спирального ганглия

за счет повышения секреторной функции сосудистой полоски, продуцирующей эндолимфу.

Кроме того, в комплексном лечении используются венотоники и препараты, стимулирующие нейропластичность, в частности используется экстракт листьев гинкго двулопастного применение которого, способствует регуляции ионного обмена в повреждённых клетках, увеличению центрального кровотока и улучшению перфузии в области ишемии.

Описан положительный эффект на состояние слуховой функции при введении лекарственных средств с использованием метода фоноэлектрофореза (комплексное использование ультразвука с электрофорезом). При этом могут применяться препараты, улучшающие микроциркуляцию и тканевый обмен.

Для лечения нейросенсорной тугоухости различной этиологии, сопровождающейся головокружением, с успехом применяются гистаминоподобные препараты, обладающие специфическим воздействием на микроциркуляцию внутреннего уха, в частности, используется бетагистин.

С целью улучшения качества лечения детей с хронической сенсоневральной тугоухостью было предложено применение нейромедиаторных аминокислот: пикамилона и тауфона. Применение препаратов медиаторных аминокислот тормозного типа действия показало их высокую эффективность по сравнению с традиционной терапией. Тауфон был эффективнее при нарушениях, вызванных вирусной инфекцией, средними отитами, а пикамилон - при сосудистых нарушениях. При сравнительной оценке клинической эффективности установлено, что тауфон значительно эффективнее, чем пикамилон, как при смешанной форме хронической тугоухости, так и при сенсоневральной тугоухости. Метод эндаурального электрофореза с препаратами нейромедиаторных аминокислот улучшает пороги костной и воздушной проводимости от 10 до 40 дБ на исследуемых частотах. Курсовая терапия пикамилоном и тауфоном способствует как статистически достоверному улучшению показателей общей гемодинамики, так и улучшению кровообращения внутреннего уха,

что было подтверждено нормализацией тонуса вен и артериол при его исходном нарушении при реоэнцефалографии.

Проводили изучение положительного воздействия кортексина у подростков с нарушенной слуховой функцией, а также влияние его на адаптационно-приспособительные системы. Кортексин – комплекс нейропептидов, обладающих тканеспецифическим, многофункциональным действием на нервную систему, проявляющимся в метаболической регуляции, нейропротекции, функциональной нейромодуляции, нейротрофической активности.

Описан эффект от стимулирующей терапии при нейросенсорной тугоухости в виде акупунктуры, электропунктуры, электростимуляции структур внутреннего уха, эндаурального фоно-электрофореза лекарственных средств, способных проникать через гематолабиринтный барьер, лазеропунктуры (10 сеансов непосредственно после завершения инфузионной терапии), а также гипербарической оксигенации.

В лечении НСТ широко применяют средства, влияющие на систему микроциркуляции в нервной ткани (стугерон, трентал, циннаризин, кавинтон и др.) из-за их положительного эффекта, связанного с влиянием препаратов на интегрирующие отделы слухового анализатора. Этот вид лечения способен, в определенной степени, предотвратить прогрессирование тугоухости.

С другой стороны оказалось, что ангиотропные препараты, применяемые у взрослых больных с НСТ сосудистого генеза (эуфиллин, папаверин, но-шпа, дибазол, никошпан, спазмолитин, апренал, компламин, вазобрал, престариум, эднит и др.), вряд ли могут оказывать положительное действие у детей с врожденными формами НСТ, из-за того, что они не влияют на кровообращение в лабиринте, поскольку внутрилабиринтные сосуды, не имея мышечной оболочки, практически не подвергаются вегетотропному воздействию (Ходжаева К.А., 2005; Хакимов А.М., Арифов С.С., 2010).

По данным метаанализа, проведенным Hawkins R.D et al. (2004) на улучшение кохлеарного кровотока не оказывал влияния ни один из таких препаратов, как: прокаин, декстран, бакстробан,

бетаметазон, пентоксифиллин, новокаин, никотиновая кислота, витамин В, ингаляции карбогена, папаверин, что дало основание авторам придти к выводу об отсутствии на настоящий момент единого эффективного способа лечения тугоухости.

С этим согласились и японские ученые, проведя крупное многоцентровое изучение сравнительной эффективности монотерапии различными препаратами, в числе которых вошли: АТФ, гидрокортизон, бетаметазон и вазоактивные препараты (алпростадил, берапростом).

F. Scheibec соавт. (2006) выявили, что превентивное назначение магнезии уменьшает степень сенсоневральной тугоухости ишемической этиологии, из-за своей способности регулировать проницаемость клеточных мембран в процессе доставки и потребления энергии.

К положительному результату пришли и Attias с соавт. (2005) определив в своём исследовании, что профилактический прием ионов магния обладает предотвращающим действием на сдвиг порогов слуха, вызванного воздействием шума высокой интенсивности. В качестве нежелательного явления, ограничивающего широкое применение данного препарата, стала транзиторная гипотония.

В последствии выяснилось, что сосудистый фактор оказывался ведущим в развитии НСТ независимо от его генеза вследствие вызываемого им нарушения доставки и утилизации кислорода, ферментов и других веществ, необходимых для нормального метаболизма нейроэпителлия внутреннего уха (Ходжаева К.А., 2005)

Как известно, рецепторы внутреннего уха представляют собой возбудимую ткань, способную генерировать биоэлектрический потенциал. И хотя механизм его генерации во многом остается не ясным, несомненным остается факт специфического метаболизма нейроэпителлия улитки и нейротрансмитерной передачи с участием нейромедиаторов.

Поэтому ряд авторов отдаст предпочтение применению препаратов производных нейромедиаторных аминокислот

тормозного действия и антиоксидантного действия (Хакимов А.М., Туляганов А.А., 2010; Ходжаева К.А., 2005).

Так, по данным Е.Г. Шаховой (2008) комплексное применение в лечении больных НСТ препаратов ноотропного действия (фенибут) и производных аминокислот (тауфон и глицин) дает хороший терапевтический эффект в виде улучшения слуха, нормализации надпороговых тестов и мозгового кровоснабжения, за счет эндогенной модуляции нейрональной активности в ЦНС, оптимизации деятельности глутаматных (NMDA) рецепторов, энергетических процессов и трансмембранных токов кальция в нейронах.

Учитывая способность стероидов уменьшать воспалительные явления во внутреннем ухе, а также обнаружение стероидных рецепторов в его тканях, некоторые авторы именно этим объясняли улучшение слуха у пациентов, получавших кортикостероиды.

В то же время R. Minoda et al., по результатам лечения 251 больного с идиопатической сенсоневральной тугоухостью системной гормональной терапией преднизолоном в сочетании с аденозинтрифосфатом, витаминами, мочегонными средствами, вазодилататорами, гипербарической оксигенацией и блокадами звездчатого узла пришли к заключению о неоправданности использования системной терапии большими дозами гормонов (свыше 30 мг в день), в связи с незначительным их влиянием на слуховую функцию. Аналогичное мнение было высказано и другими исследователями (Хакимов А.М., Туляганов А.А., 2010).

Принимая во внимание возможность появления ряда противопоказаний для системной терапии у пациентов НСТ, некоторые авторы стали применять интратимпанальное (ИТ) введение стероидов, при котором можно создать высокую концентрацию препарата в органе мишени на фоне его минимальной абсорбции. Испытание этого метода гормональной терапии в настоящее время продолжается и уже описан ряд случаев улучшения слуховой функции у больных с тугоухостью, у которых не удалось добиться положительного эффекта при системном применении кортикостероидов (Беличсва Э.Г., 2008).

Все это привело к мнению, что медикаментозная терапия сенсоневральной тугоухости все еще остаётся малоэффективной, возможно, из-за трудности проникновения лекарственных веществ через ГЛБ. Поэтому в настоящее время все актуальнее становится применение методов фармакофизического воздействия: эндауральный фонофорез, фоноэлектрофорез, суперфонофорез и суперфоноэлектрофорез как эффективных способов лечения сенсоневральных нарушений сосудистого и ототоксического генеза.

При их проведении происходит активный транспорт лекарственных препаратов в жидкости и ткани ушного лабиринта и к нейроэпителиальным клеткам за счет преодоления гематолабиринтного барьера, депонирования лекарственных веществ в тканях, окружающих слуховой проход. Так, более эффективным оказалось улучшение синаптической передачи с использованием прозерина и галантамина в электрофорезе относительно инъекций (Агзамова Г.С., Ходжаева К.А., Хасанов У.С., Тургунов Б.И., 2006). Отсутствие во внутреннем ухе высших млекопитающих регенераторной клеточной пролиферации не позволяет в случае утраты сформированных сенсоневральных элементов (волосковых клеток, нейронов спирального ганглия, волокон слухового нерва) рассчитывать на улучшение слуха при лечебном воздействии. Молекулярные механизмы гибели возбудимых клеток, ставшие известными после достижений нейробиологии за последние десятилетия, явились основанием для обновления стратегии лечения нейродегенеративной патологии.

Исходя из этого, современное направление терапии НСТ формируется добавлением цитопротективной терапии к методам улучшения трофики (реперфузии). Причем фармакологические направления цитопротекции оказались более сложны, чем реперфузия, и отражают собой разнообразные механизмы повреждения ткани (Tang L.S., 2006). К одним из таких направлений в лечении НСТ относят применение препаратов с поливалентным действием с обязательным ноотропным эффектом. Например, улучшение порогов слышимости удалось достичь применением

церебропротектора танакана, оказывающего мягкий ноотропный, церебропротективный и антидепрессивный эффект, за счет выраженного антиоксидантного, нейропротективного, антигипоксического и метаболического действия с нормализацией реологических показателей крови (Хасанов С.А., Умаров Х.У., Славецкий А.К., 2006).



Рис.1.3. Генетическая характеристика врожденной и дорчевой тугоухости (пунктиром отмечены типы наследования, которых нет в оригинальной схеме) (Smith RJ., Bale J.F., 2005).

Положительный эффект при лечении НСТ получен также при применении соединения янтарной кислоты и структурного аналога витамина В₆ - мексидола, относящегося к группе антиоксидантов с ноотропным, антиоксидантным и антиксиолитическим свойствами (Маткулиев Х.М., Маткулиев К.Х., 2006).

По видимому, решающим в положительном эффекте таких препаратов являются их ноотропные свойства, выражающиеся в: улучшении энергетического состояния нейронов (усиление синтеза АТФ, антигипоксический и антиоксидантный эффекты); активации пластических процессов в ЦНС за счет усиления синтеза РНК и белков; усилении процессов синаптической передачи в ЦНС; улучшении утилизации глюкозы; мембраностабилизирующем действии.

Определенную большую роль в диагностике играет возраст начала тугоухости. Рецессивные формы, как правило, имеют врожденный характер или выявляются в раннем детстве до начала развития речи, но могут и совпасть с периодом формирования речи. Для доминантных форм характерно позднее начало, после 6-10 лет и прогрессирующее течение.

Однако в ходе генетических исследований выяснилось, что есть исключения из правил. Рецессивные мутации в гене трансмембранной сериновой протеазы выявлены при послеречевой прогрессирующей тугоухости. Доминантные мутации в генах Sx3O, альфа-текторина, гена альфа2-цепи коллагена XI типа могут обуславливать тяжелые доречевые нарушения слуха (KoehneP.S., HusemanD., WalchE., 2006).

В этиологии нарушений слуха преобладали экзогенные факторы. К ним автор относил: родовые травмы неблагоприятное течение беременности, заболевания матери, токсические воздействия лекарств, тератогенное влияние окружающей среды. Наследственный фактор установлен у 48,2% пробандов, причем среди них 78% имели в роду кровнородственные и эндогамные браки (PetitC., 2006).

Таким образом, мутации в гене Sx26 составляют не менее 16% от всей доречевой НСТ. Остальные 50% связаны с другими рецессивными локусами.

Первоначальная оценка наличия сопутствующей симптоматики проводится параллельно с выяснением причины. Часто именно это может вызывать путаницу в ходе диагностики наследственных форм, для которых главными характеристиками являются тип наследования, возраст начала, характер тугоухости и поражения других органов. Тип наследования отражается на степени потери слуха. К сожалению, в данной работе также не выделена группа детей с тугоухостью/глухотой неясной этиологии. По сведениям иностранных авторов эта группа среди детей с врожденной и ранней тугоухостью составляет от 18% до 39% (Petit S., 2006).

Исходя из анализа приведенных выше работ, прослеживается некоторая несогласованность исследований генетиков и оториноларингологов. Сурдологи в настоящее время расставляют акценты на приобретенных формах и проводят целенаправленные профилактические мероприятия в данном направлении. Генетики, решая важные популяционные вопросы, публикуют мало работ, доступных практическому врачебному звену. Врачам необходимо последовательно разъяснять, что в данный момент делать для решения проблем профилактики и лечения наследственных нарушений слуха.

1.5. Аудиологические исследования при отборе пациентов на кохлеарную имплантацию

При наличии двухсторонней сенсоневральной тугоухости с порогами слуха более 100 дБ в диапазоне частот 500–4000 Гц у детей, несмотря на адекватное бинауральное слухопротезирование, занятия с сурдопедагогом и родителями слуховые реакции и речевая активность развиваются не полноценно. В настоящее время единственным методом реабилитации таких пациентов является кохлеарная имплантация. В мире уже около 200 тысяч глухих людей использующих кохлеарный имплант.

Кохлеарная имплантация является разновидностью слухопротезирования, при котором, происходит вживление электродных систем во внутреннее ухо с целью восстановления слухового ощущения путем непосредственной электрической стимуляции сохранных афферентных волокон слухового нерва (Kawasaki A., Fukushima K., Kataoka Y. et al., 2006; Stacey P.C., Fortnum H.M., Garty R. Barton A. Quentin Summerfield, 2006).

Раньше кохлеарная имплантация проводилась только позднооглохшим детям, в последние годы значительную часть пользователей КИ составляют дети с врожденной глухотой. Оптимальный возраст имплантации 1,5 - 3 года. Операция кохлеарной имплантации показана пациентам с пограничными порогами слуха 80-90 дБ, при неэффективности слухопротезирования. Кохлеарная имплантация это не только хирургическая операция, а целая система мероприятий. Предоперационное диагностическое обследование и отбор пациентов - кандидатов на кохлеарную имплантацию является её первым этапом. На результатах этих исследований основаны критерии отбора кандидатов на кохлеарную имплантацию и противопоказания для её проведения. Эффективность использования КИ определяется рядом факторов: возрастом потери слуха, возрастом имплантации, характеристиками КИ, уровнем сформированности остаточного слуха, языка, речи организации послеоперационной слухоречевой реабилитации и др. (Stacey P.C., Fortnum H.M., Garty R. Barton, A. Quentin Summerfield, 2006).

Аудиологическое обследование пациентов-кандидатов на кохлеарную имплантацию включает: сбор анамнеза и отологический осмотр, тональную аудиометрию, в том числе со слуховым аппаратом в свободном поле, импедансометрию, регистрацию вызванных потенциалов мозга, вызванной отоакустической эмиссии, электрофизиологическое тестирование возбудимости волокон слухового нерва, вестибулометрию. Немаловажным является и сурдопедагогическое обследование.

На втором этапе проводится хирургическая операция. Во время операции устанавливается внутренняя часть КИ, состоящая из

цепочки электродов и приемника (стимулятора)- индукционной катушки с магнитом.

На третьем этапе выполняется подключение КИ и послеоперационная слухоречевая реабилитация пациента. Этот этап выполняется через 4-6 недель после операции. Проверяется состояние внутренней части импланта, осуществляется программирование речевого процессора - определяются пороги восприятия и комфорта на каждом активном канале. Начинается реабилитация состоящая из занятий с сурдопедагогами, подстроек процессора аудиологом, и самостоятельных занятий родителей с ребенком (Avraham K.B., 2003; P.C. Stacey H.M. Fortnum, Garry R. Barton A. Quentin Summerfield, 2006).

Резюмируя анализ литературных данных можно сделать заключение, что решения проблем НСТ на современном этапе в рамках только клинической оториноларингологии или аудиологии невозможно, оно должно осуществляться с использованием потенциала таких фундаментальных дисциплин, как молекулярная биология, генетика и биохимия. Целенаправленное исследование определенных полиморфизмов «генов глухоты» даст возможность решать задачи первичной профилактики тугоухости и поиска новых ототропных фармакологических средств направленного антисурдитантного действия, исходя из современных представлений о молекулярном патогенезе НСТ.

ГЛАВА II. КЛИНИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Клиническая характеристика больных

Материалом исследования служили обследование 504 детей в возрасте от 3 месяцев до 18 лет, из них 105 детей обследованных из школы интерната для слабослышащих № 61, 285 детей из школы для слабослышащих и глухих детей и 117 госпитализированных больных детей в ЛОР отделении ОМДМЦ Самаркандской области, в период 2010 – 2013гг.. Кроме того, проведено так же анкетирование родителей детей с выявленной несиндромальной нейросенсорной тугоухостью (ННСТ).

Среди обследованных детей с нейросенсорными нарушениями слуха было 292 (57,9%) мальчиков и 212 (42,1%) девочек, т.е. установлено явное превалирование лиц мужского пола (при $P < 0,001$), (рис. 2.1).



Рис.2.1. Распределение обследованных детей с нейросенсорной тугоухостью по половой принадлежности

Распределение детей по возрасту показано в таблице 2.1 выявило явное превалирование детей в старших возрастных группах от 5 до 16 лет, что составило в каждой из групп около 20%, что в первую очередь связано с поздней диагностикой нейросенсорной тугоухости, ввиду узкой распространенности объективных методов диагностики патологии слуха в республике и сложностью диагностики в группах до 7 лет. При этом некоторое

увеличение в возрастной группе 1-3 года (8,1%) и 3-5 лет (11,7%) свидетельствует о том что в последние годы наметился прогресс в плане ранней диагностики патологии слуха.

Таблица 2.1

Распределение больных по возрасту и полу

Возраст, пол	0-1 год		1-3 года		3-5 лет		5-7 лет	
	Девочки	0	0	15	7,1	24	11,3	35
Мальчики	1	0,3	26	8,9	35	12,0	55	18,8
P	>0,05		>0,05		>0,05		>0,05	
Итого	1	0,2	41	8,1	59	11,7	90	
Возраст, пол	7-10 лет		11-13 лет		14-16 лет		16-18 лет	
	Девочки	38	17,9	50	23,6	39	18,4	11
Мальчики	49	16,8	56	19,2	54	18,5	16	5,5
P	>0,05		>0,05		>0,01		>0,05	
Итого	87		106		93		27	

Всем обследуемым проведено комплексное клиническое обследование включающее:

- изучены жалобы со слов родителей;
- сбор анамнеза, включая семейный анамнез;
- общий осмотр
- осмотр ЛОР-органов;
- консультация невропатолога, педиатра.

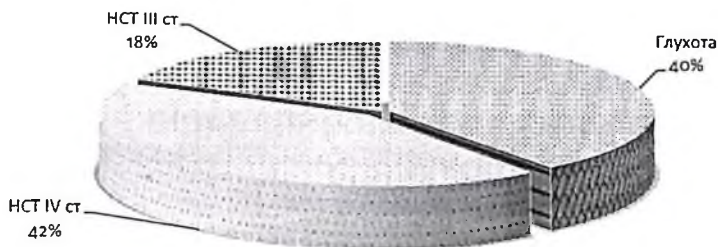


Рис. 2.2. Распределение обследованных детей по степени тяжести нейросенсорной тугоухости

В результате первичного обследования выявлено 200 (39,7%) глухих детей, 213 (42,3%) - с тугоухостью IV степени, а остальные 91 (18,1%) с тугоухостью III степени (рис. 2.2).

Анализ распределения больных с двусторонней нейросенсорной тугоухостью по половой принадлежности и степени снижения слуха не выявил существенную зависимость между степенью снижения слуха и полом (табл. 2.2), при этом данные обследования НСТ были первичными.

Таблица 2.2

Распределение пациентов по половой принадлежности и степени снижения слуха

Степень снижения слуха	3 степень	3-4 степень	4 степень	глухота
Мальчики (292)	33/11,3%	30/10,3%	118/40,4%	111/38,0%
Девочки (212)	16/7,5%	28/13,2%	90/42,5%	78/36,8%
P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

При изучении жалоб, анамнеза особое внимание уделялось: наличию жалоб на слух (наличие или отсутствие реакции на слуховые раздражители), наличие речи (наличие гуления, речи, повторение слов, предложений); изучение семейного анамнеза (наследственные заболевания у родственников, сопровождающиеся поражением слухового анализатора; наличие в семье больного слабослышащего или глухого родителя или родственника, включая дальних родственников); наличие генетических синдромов, связанных с поражением слухового анализатора (синдром Дауна, синдром Пьер-Робена, синдром Ваарденбурга и др.); патология челюстно-лицевого скелета у новорожденного. Кроме того, определяли наличие пре-, пери- и постнатальных факторов риска.

В качестве пренатальных факторов отмечали: наличие аборт в анамнезе, перенесенные краснуха и токсоплазмоз во время беременности, прием ототоксических антибиотиков (ОТАБ) и злоупотребление алкоголя во 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.

После сбора анамнеза и клинического исследования больных проведен анализ причин развития НСТ (табл. 2.3).

Таблица 2.3

Причины развития нейросенсорной тугоухости у больных

Фактор	Кол-во детей	
	абс.	%
Неясная этнология	157	31,2
Наследственные заболевания у родственников, сопровождающиеся поражением слухового анализатора	73	14,5
Патология беременности (многоводие, резус – конфликт, тяжелый гестоз первой и второй половины беременности) и родов.	47	9,3
Прием ототоксических антибиотиков (ОТАБ),	46	9,1
Инфекционные заболевания в постнатальном периоде, в том числе острый средний отит	45	8,9
Низкая масса тела при рождении (менее 1500гр)	37	7,3
Асфиксия новорожденных	35	6,9
Аномалии челюстно-лицевого скелета у новорожденного	34	6,7
Высоко токсическая гипербилирубинемия новорожденных	27	5,4
Внутриутробные инфекционные и вирусные заболевания (краснуха, цитомегаловирус, герпес, токсоплазмоз)	22	4,4
Недоношенность	17	3,4
Наличие генетических заболеваний, сопровождающихся с поражением слухового анализатора (синдром Дауна, синдром Пьер-Робена, синдром Ваарденбурга и др.);	15	3,0
Злоупотребление алкоголя во время беременности	12	2,4
Черепно-мозговая травма	7	1,4
Гипоксия в родах	5	1,0

Этиологическим фактор служившим причиной нарушений слуха при сборе анамнеза при обследовании 504-х детей включала: 15 (2,9%) детей - врожденных пороков развития, 47 (9,3%) патологии беременности и родов, 45 (8,9%) тяжелых инфекций, наследственность была установлена в 73 (14,5%) случаев. Сочетание наследственных факторов с приобретенными причинами имело место у 25 (4,9%) детей. Причина неясна была у 157 (31,2%) детей. В подгруппе факторов относящихся к патологии беременности и родов преобладала недоношенность 17 (3,4%) детей, низкая масса тела – 37 (7,3%) и гипоксия в родах - 5 (1,0%). Врожденные инфекции составили 22 (4,4%) случаев, гемолитическая болезнь – 22 (4,3%) случаев.

Группа инфекционных заболеваний в постнатальном периоде составила 45 (8,9%) детей. В качестве пренатальных факторов больные так же отмечали: наличие абортoв в анамнезе. Перинатальными факторами риска развития тугоухости считали, кесарево сечение. В виде постнатальных факторов риска тугоухости регистрировали наличие отставания моторного развития, отиты в анамнезе, прием ОТАБ в раннем детстве.

При дифференциальной диагностике учитывались неблагоприятные факторы внешней среды, воздействие которых может приводить к нарушению слуха в эмбриональный, перинатальный, послеродовой периоды, в раннем детстве и на протяжении всей жизни пациента (согласно Проскту протокола профилактики и раннего выявления нарушения слуха новорожденных и детей первых месяцев жизни (Таварткиладзе Г. А. и др., 2006)). В результате проведенной дифференциальной диагностики 298 пациентов были исключены из выборки, так как удалось установить экзогенные причины заболевания. Всем остальным пациентам (n=387) было проведено медико-генетическое консультирование. В результате проведенных исследований выявлено, что в целом от инбредных браков родилось 106 пробандов.

В результате анализа первичного материала в рассмотрении осталось 117 больных из 95 семей вошедших в группу с

предположительно наследственной несиндромальной нейросенсорной тугоухостью, которая и явилась группой исследования.

Распределение больных в группе с предположительно ННСТ (n=117) показало превалирование больных в средней возрастной группе от 3 до 14 лет, с наибольшим количеством в группе 3-5 лет (n=29, 24,8%), что связано, скорее с наследственным характером заболевания, при котором родители в более ранние сроки обращались в специализированные аудиологические кабинеты для диагностики состояния слуховой функции, в отличие от группы детей с экзогенными причинами, при которых информированность родителей о возможной потере слуха отсутствовала.

2.2. Методы аудиологических исследований

Больным группы предположительно ННСТ проводили оценку слуховой функции на основании результатов следующих обследований:

- тональная пороговая аудиометрия (ТПА);
- тимпанометрия, акустический рефлекс (АР);
- регистрация двух классов отоакустической эмиссии: задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ) и эмиссии на частоте продукта искажения (ПИОАЭ);
- записью электрической активности коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП).

Степень снижения слуха у пациентов определяли по классификации, принятой в сурдологии (табл. 2.4).

Таблица 2.4
Международная классификация тугоухости (по ВОЗ, 1997 г.)

Степень снижения слуха	Дб
I степень	26-40
II степень	41-55
III степень	56-70
IV степень	71-90
Глухота	>90

Для определения степени потери слуха необходимо определить среднее арифметическое порогов воздушной проводимости на частотах 500, 1000, 2000, 4000 Гц и сравнить со значениями в таблице.

Всем слабослышащим детям старше 7 лет была проведена **тональная пороговая аудиометрия** в звукоизолированном помещении. Тональная пороговая аудиометрия основывается на установлении абсолютных порогов слышимости в заданном диапазоне частот. Исследуется слуховая чувствительность в диапазоне 125-8000 Гц при воздушном проведении и 250-4000 Гц при костно-тканевом проведении звука.

Максимальная интенсивность звукового сигнала составляет 100-110 дБ при воздушном проведении, при костном проведении - 60-70 дБ над нулевым уровнем. О характере нарушения слуховой чувствительности судят по конфигурации аудиометрических кривых. Акустические стимулы проводятся через телефоны воздушной и костной проводимости.

Данные тональной аудиометрии заносятся на специальный бланк, где по оси ординат отмечаются значения порогов слуха в дБ потери слуха. Тональная пороговая аудиометрия проводилась с использованием стандартной аудиометрической процедуры с использованием аудиометра МА-31 (Германия).

Пороги восприятия звука определены для каждого уха отдельно. Степень тяжести тугоухости диагностировали по лучше слышащему уху на частотах 500, 1000, 2000 и 4000 Гц, с вычислением среднеарифметического значения, соответственно с классификацией ВОЗ (табл. 2.4) [20]. Пределом определения звуковосприятия использованного нами аудиометра являлся порог слуха 100 дБ.

Метод **импедансной аудиометрии** применяется для объективной оценки функционального состояния звукопроводящего и звуковоспринимающего отделов слуховой системы для исключения кондуктивного компонента тугоухости. Регистрировались следующие параметры:

а) статическое, или абсолютное, акустическое сопротивление среднего уха;

б) изменение импеданса среднего уха в зависимости от изменения давления в наружном слуховом проходе (импедансометрия или тимпанометрия);

в) изменение импеданса при сокращении внутри барабанных мышц (акустическая рефлексометрия);

г) барическое давление воздуха в барабанной полости.

Данное обследование выполняется на импедансометре с зондирующим тоном 1000 Гц (детям первого года жизни) интенсивностью 85 дБ УЗД (по уровню звукового давления). Тимпанометрию проводят при изменении давления в наружном слуховом проходе в диапазоне от +200 до -400 да Па. Оценивают форму тимпанограммы. При оценке тимпанограмм используют классификацию J. Jerger (1970) - тимпанограммы типов "А", "В", "С", "Ad" и "As". Постановка диагноза проводилась на основании анализа параметров тимпанограммы: расположения пика максимальной подвижности, ее значений, формы тимпанограммы. В соответствии с классификацией Jerger (1971) выделяют 5 типов тимпанограмм (рис. 2.3):

- тип А - характерный для нормы, выявляется в норме. Регистрируется симметричная кривая, пик давления которой находится в диапазоне от -150 до +100 даПа, пик комплианса 0.2 - 2.5 mmhos.

Тип As (shallow) регистрируется при клеевом ухе, утолщенной либо рубцово измененной барабанной перепонке, а также при фиксации подножной пластинки стремени (в т.ч. вследствие отосклероза);

Тип Ad (decp) выявляют при повышенной подвижности барабанной перепонки (атрофические рубцы, гипотонус) и нарушении целостности (разрыве) цепи слуховых косточек или врожденном отсутствии некоторых её элементов.;

- тип В - регистрируется при средних отитах, при наличии экссудата в полости среднего уха (адгезивных средних отитах, когда барабанная перепонка тесно прилегает к медиальной стенке

барабанной полости);

- тип С - характерный для нарушений функций слуховой трубы, характеризуется смещением пика давления менее -150 da Pa , зубец всегда регистрируется, но его амплитуда может быть снижена. Этот тип соответствует значительному отрицательному давлению в барабанной полости и может указывать на нарушение вентиляционной функции слуховой трубы;

- тип D - тимпаногамма с двумя близко расположенными и достаточно острыми пиками (характерна для состояний, ведущих к потере эластичности барабанной перепонки, прежде всего - атрофические рубцы);

- тип E - тимпаногамма с двумя (реже более) пиками, достаточно далеко отстоящими друг от друга и имеющими закругленные вершины (наблюдается при разрыве цепи слуховых косточек).

Кроме того, осуществляют ипси- и контралатеральную регистрацию акустического рефлекса. Оценивают наличие акустического рефлекса и его пороги при ипси- и контралатеральной стимуляции. Акустическая импедансометрия позволяет исключить патологию среднего уха и системы звукопроводения, а при наличии акустических рефлексов - получить дополнительную информацию о состоянии слуховой функции.

Регистрация двух классов отоакустической эмиссии: задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ) и эмиссии на частоте продукта искажения (ПИОАЭ) проведена на аппарате Нейро-аудио (компьютерный комплекс) (Нейрософт, Иваново, РФ). Стимулами при регистрации ЗВОАЭ служили широкополосные акустические щелчки, предъявляемые с частотой следования $50/\text{с}$, длительностью 80 мкс и интенсивностью $82 \pm 2 \text{ дБ УЗД}$.

При регистрации ПИОАЭ использовалось соотношение частот стимуляции равное $f_2/f_1=1,22$. Интенсивность стимулов равнялась $I_i=I_2=70 \text{ дБ УЗД}$. Критерием наличия ПИОАЭ на каждой частоте также рассматривался уровень эмиссии, превышающий уровень

фонового шума на 3 дБ. У новорожденных и детей младшего возраста обследование с помощью ЗВОАЭ и ОАЭПИ проводили во время сна, у детей старшего возраста и взрослых - в состоянии спокойного бодрствования.

Процедура занимала 5-10 минут. Электроакустический зонд с миниатюрным телефоном и высокочувствительным микрофоном (акустический зонд, на который надевается ушной вкладыш) герметически вводили в наружный слуховой проход больного, находящегося в спокойном состоянии, у новорожденных в период между кормлениями. Зонд подсоединен к прибору для регистрации ОАЭ.

Больной должен быть неподвижным и спокойным; желательно, чтобы он спал. Грибовидный или конусовидный вкладыш соответствующего для полной obturации слухового прохода размера, вводится по ходу наружного слухового прохода. Исследование проводится в тишине. Тестирование при использовании грибовидного вкладыша более эффективно; вкладыш должен быть введен в слуховой проход, а не расположен у его входа, оставляя проход открытым. ОАЭ, ПИОАЭ возникают через определенный промежуток времени после предъявления стимула.

Отоакустическая эмиссия представляет собой чрезвычайно слабые звуковые колебания генерируемые в улитке и регистрируемые в наружном слуховом проходе при помощи высокочувствительного малошумящего микрофона. Практическое значение ОАЭ заключается в возможности её регистрации в условиях нормального или близкого к норме функционального состояния рецепторного аппарата внутреннего уха и сохранности звукопроводящей системы.

ОАЭ не регистрируется если пороги слышимости превышают 25-30 дБ в частотном диапазоне 1-4кГц, что может быть обусловлено не только НСТ но и кондуктивной тугоухостью. Запись и интерпретация ОАЭ очень проста, однако имеет некоторые недостатки: очень высока зависимость записи ОАЭ от состояния среднего уха и наружного слухового прохода

(отрицательное давление в барабанной полости, послеродовых масс в наружном слуховом проходе и т.д.), что приводит к ложноотрицательным результатам. (Кемп D.T., 1978)

Регистрация коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП) проводилась в тихом помещении, экранированном от электрических помех с использованием системы Нейро-аудио (компьютерный комплекс) (Нейрософт, Иваново, РФ).

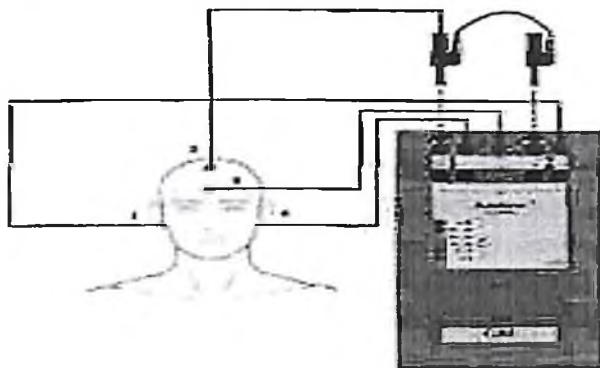


Рис. 2.5. Расположение электродов на голове пациента при регистрации КСВП

Детям до 10 лет исследование проводили в состоянии естественного или медикаментозного сна с использованием высокой частоты модуляции стимула (от 70 до 100 Гц). При исследовании пациентов старше 10 лет стимуляция производилась с частотой модуляции 46 Гц, в состоянии спокойного бодрствования. Исследование проводилось во всех возрастных группах.

Участки кожи на голове больного перед исследованием обрабатывают спиртом и абразивным составом. При установке электродов используют электропроводный гель или пасту для улучшения электропроводности и уменьшения сопротивления кожи. Межэлектродное сопротивление не превышало 3-7 кОм. В противном случае следует провести повторную обработку кожи и переустановку электрода/электродов в соответствующих областях.

При регистрации КСВП используется двухканальная система регистрации СВП. Активный электрод располагался на сосцевидном отростке исследуемого уха, заземляющий электрод располагался на лбу, выше переносицы. Референтный электрод располагался на лбу, на границе с волосистой частью головы (рис. 2.3).

Звуковую стимуляцию проводили с помощью внутри ушных телефонов. В наружные слуховые проходы вводят одноразовые внутри ушные вкладыши- конусовидные или цилиндрические, способные уменьшаться в диаметре под действием рук исследователя и затем «расправляться» в наружном слуховом проходе, полностью obtурируя его.

В качестве стимулов используют короткие широкополосные акустические щелчки альтернирующей полярности, полученные от прямоугольных электрических импульсов длительностью 100 мкс. При стандартной методике регистрации КСВП частота предъявления стимулов составляет 20–40/с. Для исключения возможного взаимодействия стимула с электрическими эффектами сетевой частоты (50 Гц) используют дробное число предъявлений в секунду, 24 Гц. Для выделения волн КСВП используют высокие значения коэффициента усиления. Доля фрагментов, оцененных как артефакты, не должна превышать 20%. Длительность усредняемых отрезков электроэнцефалограммы (окно анализа) составляет обычно 15–20 мс от начала стимула. Исследование начинали с интенсивности стимуляции в 60 дБ над порогом нормального слуха. При отсутствии ответа интенсивность увеличивают, при наличии ответа- постепенно снижали шагом в 5–10 дБ до порогового уровня стимуляции. Нижняя полоса пропускания усилителя устанавливаясь на уровне 100–300 Гц, а верхняя - на уровне 3 000 Гц. В ряде случаев, особенно при исследовании детей раннего возраста, проводится расширение полосы пропускания усилителя от 30 до 3 000 Гц. Однако следует иметь в виду, что снижение нижней границы фильтра значительно ускоряет формирование пиков, но увеличивает зависимость сигнала

от миогенных артефактов, поэтому может применяться только в состоянии глубокого сна.

Фоновая биоэлектрическая активность значительно превышает по величине сигнал КСВП, что заставляет применять длительное накопление сигнала. Обычно при спокойном сне ребенка требуется около 1 500-2 000 усреднений пост стимульных отрезков электроэнцефалограммы. На около пороговых интенсивностях звуковой стимуляции и/или при неглубоком сне ребенка исследование продолжают до значительного увеличения числа накоплений (до 4 000).

Для исключения ошибки при анализе полученных кривых учитывают не только достаточное количество накоплений, но и достаточно точную повторяемость кривых. Слуховую функцию оценивали по пороговым и амплитудно-временным характеристикам V пика КСВП (с построением функций «Латентный период пика/интенсивность» и «амплитуда пика/интенсивность»).

За порог регистрации (так называемый порог визуальной детекции КСВП) принимали наименьшую интенсивность стимула (дБ нПС или дБ УЗД), при которой при повторной регистрации визуализируется V пик. Возможность установления маркеров позволяло оценить его латентный период и амплитуду в сравнении с нормативами, заложенными в приборе. Ранние компоненты КСВП, как правило, идентифицируются при подаче звуковых стимулов, значительно превышающих по интенсивности пороги слышимости. В связи с этим, при анализе кривых вызванных потенциалов и определении порога визуальной детекции ориентировались, прежде всего, на волны III и V.

При приближении к пороговой интенсивности, когда ответ становится неочевидным, повторяли спорные регистрации при тех же параметрах или при условиях, обеспечивающих максимальное выделение потенциалов (увеличивая значения коэффициента усиления или количество усреднений). Латентные периоды волн измеряют от начала стимула до положительного пика волны, а амплитуды - от положительного пика до последующего

отрицательного. На рисунке 2.2.2 представлены типичные кривые регистрации волн КСВП в зависимости от интенсивности стимулирующего сигнала у ребенка с нормальным слухом.

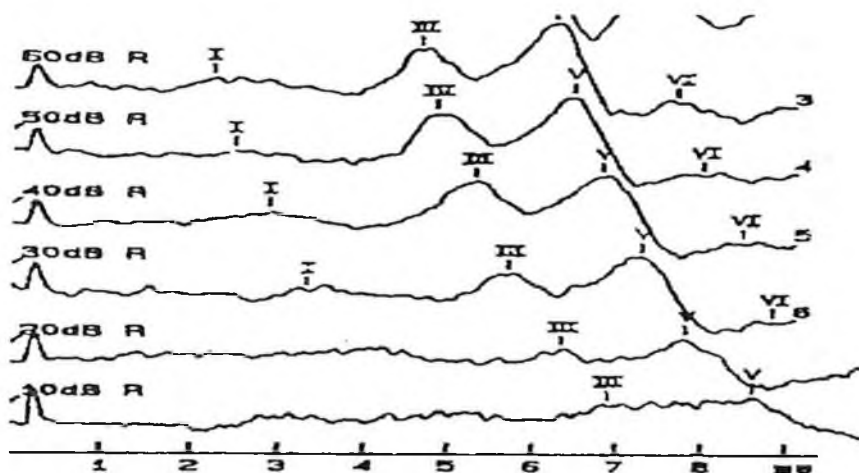


Рис. 2.6. Кривые регистрации волн КСВП в зависимости от интенсивности стимулирующего сигнала у отолотически здорового ребенка.

Технически, в случае выявления нарушения слуха, второй этап может быть расширен. Так, при отсутствии V пика на 30–40 дБ интенсивность стимула повышают с шагом 5-10 дБ вплоть до визуализации данного компонента ответа, что дает информацию о примерном пороге слышимости в диапазоне частот 2-4 кГц.

2.3. Медико-генетическое исследование

Медико-генетическое исследование больных нейросенсорной тугоухостью включает медико-генетическое консультирование и молекулярно-генетическое исследование.

Медико-генетическое консультирование. При МГК составляли клинический протокол, в котором собирали подробный анамнез на основе разработанной нами "Первичная генетическая карта" (приложение 1), осмотр и аудиологическое исследование членов ядерной семьи, необходимое обследование слуха ребенка.

Они также проходили клиническое обследование, включая аудиометрию. Сведения всех родственников относительно родословной фиксировались отдельно.

В приложении 1 приведена анамнестическая часть генетической карты.

Описание клиники больных детей несиндромальных форм тугоухости основывалась на характеристике нарушений слуха: тип наследования, возраст начала заболевания, степень тяжести. Определить тип наследования в конкретной семье не всегда возможно, особенно если данный случай является единственным в семье. Поэтому мы ориентировались на данные анамнеза заболевания. Важную роль в диагностике играет возраст начала тугоухости. Так, рецессивные формы несиндромальной тугоухости часто имеют врожденный характер или начинаются в раннем детском возрасте до развития речи, так же могут совпасть и с периодом формирования речи. Для доминантных форм характерно позднее начало тугоухости, после 6-10 лет и прогрессирующий характер нарушений.

Опрос и анкетирование родителей использовалось в виде скрининга для исключения синдромальной патологии. В задачи нашего скрининга входило определение распространенности генетических нарушений среди детей с наследственной стойкой детской тугоухостью, оценка анамнеза больных в рамках опроса целью выявления причин этого заболевания.

На первоначальном этапе для сбора данных использовалась анкета (приложение 1).

Целью нашего опроса заключалась в сборе информации об анамнезе заболевания ребенка в первую очередь, характере родословной его семьи, поэтому вопросник мы идентифицировали как «Анкета для родителей». Опрос с помощью анкеты позволял в короткие сроки получить необходимую информацию от большого числа респондентов. (приложение 1). Структура анкеты включала введение, с указанием кто проводит данное исследование, какую цель оно преследует и сколько потребуется на это времени. В

начале анкеты родители указывали дату, время и место опроса, свои Ф.И.О.

Молекулярно-генетическое исследование. Способы взятия материала и выделение ДНК. Взятие крови проводилось с согласия родителей ребенка и при получении соответствующего документа «Информированного согласия» за их подписью. В большинстве семей кровь бралась и у родителей.

Процедура взятия венозной крови осуществлялась с помощью вакутейнеров, содержащих антикоагулянт ЭДТА. Каждая пробирка подписывалась непосредственно перед взятием крови. Хранение образцов крови осуществлялось при температуре - 20 °С.

При скрининговом исследовании проводили взятие крови из локтевой вены при помощи одноразового шприца. Материалом для ДНК служила венозная кровь из локтевой вены объемом 1 мл. Для сбора, хранения и транспортировки крови использовались вакутейнеры или одноразовые пластиковые пробирки с антикоагулянтом (консерватором) объемом 0,5 мл. Кровь для дальнейшей обработки хранилась при температуре не менее +4 °С. Индивидуальную пробирку пронумеровали непосредственно перед взятием крови под контролем педагога и врача. Венозную кровь (1мл), переносили в пробирку с антикоагулянтом (EDTA 50мкл) и немедленно после взятия перемешивали переворачиванием пробирок с кровью, закрытых крышками, не менее 5 раз. Время между началом наложения жгута и смешиванием крови с антикоагулянтом не превышало 2 минуты. Собранные образцы крови доставлялись в лабораторию Центра Медицинской генетики. Если доставка образцов крови в лабораторию осуществлялась в течение дня, то она хранилась при температуре +4 (в холодильнике) и далее в специальных транспортных контейнерах в ледяной бане доставлялась в лабораторию. Для более длительного хранения образцы крови замораживали и хранили при температуре -20⁰С.

Выделение ДНК из цельной крови осуществлялось набором реагентов Diatom™ DNA Prep 200 (производство ООО “Лаборатория ИзоГен”, Москва, Россия). Данный набор реагентов основан на использовании лизирующего реагента с

гуанидинтиоцианатом, который предназначен для лизиса клеток, солюбилизации клеточного дербиса, а также для денатурации клеточных нуклеаз.

В присутствии лизирующего реагента ДНК активно сорбируется на NucleoSTM - сорбенте. ДНК, элюированная из сорбента ЭкстаГеном ЕTM или чистой водой напрямую использовалась для дальнейшего проведения анализа. Выделение ДНК проводилось по стандартному протоколу выделения ДНК с использованием набора реагентов DiatomTM DNA Prep 200.

Протокол выделение ДНК с использованием сухого набора реагентов DiatomTM DNA Prep 200

Характеристика набора ДНК, выделенная из свежего биологического материала (цельной крови, клеточной культуры, гомогената ткани и т.д.), является высокомолекулярной, 40-50 ты.н.п. Набор реагентов обеспечивает высокую чистоту выделенной ДНК OD 2601280 нм 1,6-2,0. Выход чистой ДНК из цельной крови составляет 5-10 мкг из 200 мкл крови.

Приготовление рабочего раствора Солевого буфера: содержимое флакона с 10-кратным Солевым буфером, 10мл, перенести в мерный цилиндр, довести бидистиллированной водой до метки 100 мл и 96% этиловым спиртом до метки 300 мл и перемешать. Готовый рабочий раствор Солевого буфера следует хранить в герметично закрытой посуде при температуре 4° С.

В пробирку объемом 1,5 мл внести 200 мкл исследуемой пробы, добавить 800 мкл лизирующегося реагента и перемешать содержимое пробирки переворачиванием (5-10 раз). Термостатировать пробирку со смесью 5-7 мин. при температуре 65°С. Если выделение ДНК проводится из твердого сухого мелкоизмельченного материала, то следует термостатировать 30-40 мин.

1. После термостатирования центрифугировать пробирку со смесью 10 сек при 5000 об/мин в том случае, если смесь содержит несолюбилизованный клеточный дербис или другой нерастворенный осадок. Прозрачный супернатант целиком перенести в чистую пробирку.

2. В пробирку с чистой смесью добавить 20-40 мкл суспензии сорбента NucleoS™ (40 мкл если выделение ДНК проводится из цельной крови или другой богатой ДНК жидкости). Перед использованием NucleoS™ следует интенсивно перемешать до гомогенной суспензии на вортексе.

3. Пробирку поместить на ротатор и перемешивать 10 мин (10-20 об/мин)

4. Центрифугировать 10 сек при 5000 об в мин.

5. Осторожно, не задевая осадок, удалить супернатант с помощью водоструйного насоса.

6. К осадку добавить 400 мкл Лизирующего реагента, тщательно перемешать на вортексе до полного гомогенного состояния.

7. Добавить в пробирку 1 мл рабочего раствора Солевого буфера (п.1).

8. Перемешать содержимое пробирки переворачиванием пробирки 5-10 раз

9. Центрифугировать 10 сек при 5000 об. в мин.

10. Осторожно удалить супернатант, не задевая осадок, с помощью водоструйного насоса.

11. Добавить в пробирку 1 мл Солевого буфера, перемешать содержимое пробирки на вортексе, центрифугировать 10 сек при 5000 об. в мин., осторожно удалить супернатант, не задевая осадок, с помощью насоса.

12. Повторить положение 14.

13. Посушить осадок при температуре 65°C в течение 3-4 мин.

14. В эту же пробирку внести 100-200 мкл Экстра Гена Е™.

*Внимание! Экстра Ген Е™ следует отбирать от общего объема при постоянном перемешивании!

15. Суспендировать содержимое пробирки на вортексе 5-10 сек до получения гомогенной суспензии, затем термостатировать 4-5 мин при 65°C.

16. Еще раз суспендировать содержимое пробирки на вортексе перед центрифугированием.

17. Центрифугировать 1 мин при 10000 об. в мин.

18. Перенести супернатант с ДНК в чистую пробирку. ДНК хранить при температуре -20°C .

19. Супернатант с ДНК далее подвергался непосредственно генотипированию путем предварительного лигирования, а затем ПЦР-амплификации.

20. Лигирование проводили используя Rfu-лигазу. Программа лигирования: $98^{\circ}\text{C} - 5$ мин, $59^{\circ}\text{C} - 1,5$ часа.

Типирование образцов ДНК по гену ФАГ с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров с участками гена ФАГ. ПЦР анализ проводили с использованием набора реагентов для ПЦР амплификации ДНК GenePak™ PCR Core (производство ООО “Лаборатория Изо Ген”).

Использовались готовые для амплификации пробирки Master Mix, которые содержат в лиофилизированном сухом состоянии ингибированную “для горячего старта” Taq ДНК полимеразу, дезоксинуклеозодтрифосфаты и хлорид магния с конечными концентрациями, соответственно, 1 и, 200 мкМ и 2,5 мМ, а также оптимизированную буферную систему для проведения стандартной ПЦР амплификации. В пробирки Master Mix добавлялось по 5 мкл смеси праймеров, с конечной концентрацией 0,5 мкМ, 10 мкл ПЦР растворителя и по 5 мкл исследуемой ДНК. ПЦР амплификация проводилась по стандартному протоколу. Для проведения ПЦР амплификации использовали GeneAmp® ПЦР система 9700 с золотым 96-ячеечным блоком (Applied Biosystems). Программа амплификации включала 5 мин предварительной денатурации при 95°C , 34 цикла: $94^{\circ}\text{C} - 30$ с, $66^{\circ}\text{C} - 30$ с, $72^{\circ}\text{C} - 30$ с ; программу завершала элонгация при 72°C в течение 7 мин.

Протокол проведение ПЦР-реакции с использованием сухого набора реагентов GenePak™ PCR Core

1. Перед проведением реакции вынуть из холодильника нужное количество пробирок Мастер Микса;

2. Промаркировать соответствующим образом необходимое количество пробирок Мастер Микса: (+), (-) контроли и исследуемые пробы;

3. Добавить во все пробирки по 5 мкл смеси праймеров. Рекомендуемая конечная концентрация праймеров 0.1–0.5 мкМ;

4. Добавить во все пробирки, включая и контроли, по 10 мкл ПЦР растворителя. Специально растворять содержимое пробирки не обязательно;

5. Добавить в соответствующие пробирки Мастер Микса по 5 мкл исследуемой ДНК. В качестве (-) контроля следует использовать бидистилл. воду или тот растворитель, в котором растворена исследуемая ДНК. Добавить во все пробирки по 1 капле (около 20 мкл) масла.*Внимание! Для предотвращения контаминации при работе с исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется использовать специальные наконечники с антиаэрозольными фильтрами.

6. Перенести пробирки в термоблок программируемого термостата и запустить соответствующую программу амплификации. При выборе программы амплификации рекомендуется использовать температуру отжига на 2–3°C ниже оптимизированной для данной пары праймеров на стандартном PCR буфере без денатурирующих агентов (глицерина, ДМСО, формамида и т.д.);

7. После окончания амплификации все пробирки перенести в комнату для проведения электрофореза (детекции) ДНК. 5–10 мкл ПЦР продукта использовать для анализа гель-электрофорезом без дополнительного разбавления краской для нанесения.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и методы анализа мутаций в генах коннексина 26.

Первым этапом определения мутаций в генах была амплификация определенного участка ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод предполагает выборочное копирование определенного участка гена на основе матрицы (исследуемая одноцепочечная ДНК) с помощью пары специфических олигонуклеотидов (праймеров) и фермента полимеразы, при наличии свободных фосфонуклеотидов.

Полимераза способна синтезировать на матрице комплементарную нить ДНК путем достраивания праймеров

соответствующими нуклеотидами. Праймеры связываются с матрицей (процесс отжига) и выступают в роли затравки. Основная цель метода синтезировать достаточное для дальнейшего анализа количество исследуемого фрагмента гена.

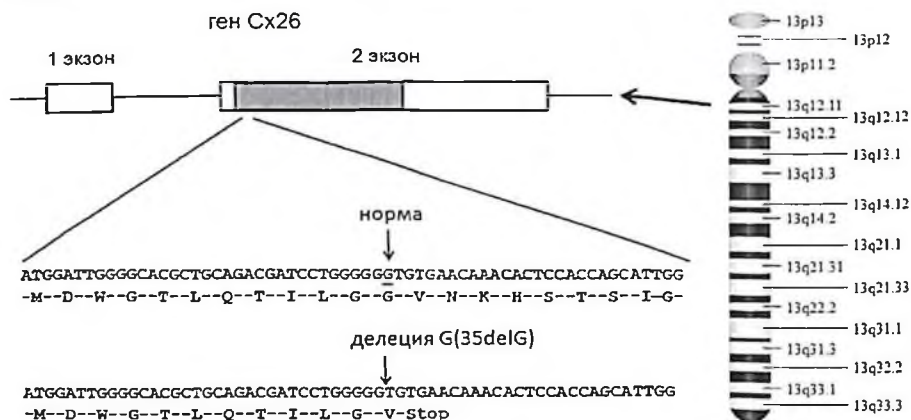


Рис. 2.7. Ген Cx26 расположен на хромосоме 13 в регионе 13q12.11. Содержит 2 экзона, один из них нетранслируемый

Анализ гена Cx26(GJB2) проводился на базе молекулярно-генетической лаборатории «геномики человека» научного центра Института генетики и ЭБР АН РУЗ г. Ташкента, под руководством д.б.н. Мухаммедова Р.С. Детекцию мутации 35delG проводили методом ПЦР-ПДРФ на ДНК-амплификаторе GeneAmp 9700(Applied Biosystems). На первом этапе амплифицировали фрагмент гена Cx26 с использованием следующих праймеров:

Cx26_F: 5'-GCTGGTGGAGTGTTTGTTTCACACCCTC-3'

Cx26_R: 5'-TCTTTTCCAGAGCAAACCGC-3'.

Нуклеотидная последовательность экзонов гена cx26:

1 экзон

CGGAGCCCCCTCGGCGGCGCCCGGCCAGGACCCGCCTAGGAGCGCAGG
AGCCCCAGCGCAGAGACCCCAACGCCGAGACCCCCGCCCGGCCCGC
CGCGCTTCCTCCCGACGCAG

2 экзон (кодирующая область выделена серым цветом)

AGCAAACCGCCCAGAGTAGAAGATGGATTGGGGCACGCTGCAGACGAT
CCTGGGGGGTGTGAACAAACACTCCACCAGCATTGGAAAGATCTGGCT
CACCGTCTCTTCATTTTTTCGCATTATGATCCTCGTTGTGGCTGCAAA
GGAGGTGTGGGGAGATGAGCAGGCCGACTTTGTCTGCAACACCCTGCA
GCCAGGCTGCAAGAACGTGTGCTACGATCACTACTTCCCCATCTCCCA
CATCCGGCTATGGGCCCTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGCT
CCTAGTGGCCATGCACGTGGCCTACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAA
GTTTCATCAAGGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGAT
CAAAACCCAGAAGSTCCGCATCGAAGGCTCCCTGTGGTGGACCTACAC
AAGCAGCATCTTCTTCCGGGTCATCTTCGAAGCCGCCTTCATGTACGT
CTTCTATGTCATGTACGACGGCTTCTCCATGCAGCGGCTGGTGAAGTG
CAACGCCTGGCCTTGTCCCAACACTGTGGACTGCTTTGTGTCCCGGCC
CACGGAGAAGACTGTCTTACAGTGTTTCATGATTGCAGTGTCTGGAAT
TTGCATCCTGCTGAATGTCACTGAATTGTGTTATTTGCTAATTAGATA
TTGTTCTGGGAAGTCAAAAAGCCAGTTTAAACGCATTGCCAGTTGTT
AGATTAAGAAATAGACAGCATGAGAGGGATGAGGCAACCCGTGCTCAG
CTGTCAAGGCTCAGTCGCTAGCATTTCCTAACACAAAGATTCTGACCT
TAAATGCAACCATTTGAAACCCCTGTAGGCCTCAGGTGAAACTCCAGA
TGCCACAATGGAGCTCTGCTCCCCTAAAGCCTCAAACAAAGGCCTAA
TTCTATGCCTGTCTTAATTTTCTTTCACTTAAGTTAGTTCCACTGAGA
CCCCAGGCTGTTAGGGTTATTGGTGTAAAGGTACTTTCATATTTTAAA
CAGAGGATATCGGCATTTGTTTCTTTCTCTGAGGACAAGAGAAAAAAG
CCAGGTTCCACAGAGGACACAGAGAAGGTTTGGGTGTCTCTGCGGGT
TCTTTTTTGCCAACTTTCCCACGTTAAAGGTGAACATTGGTTCTTTCA
TTTGCTTTGGAAGTTTTAATCTCTAACAGTGGACAAAGTTACCAGTGC
CTTAAACTCTGTTACACTTTTTGGAAGTGAAACTTTGTAGTATGATA
GGTTATTTTGATGTAAAGATGTTCTGGATACCATTATATGTTCCCCCT
GTTTCAGAGGCTCAGATTGTAATATGTAAATGGTATGTCATTGCTAC
TATGATTTAATTTGAAATATGGTCTTTTGGTTATGAATACTTTGCAGC
ACAGCTGAGAGGCTGTCTGTTGTATTTCATTGTGGTCATAGCACCTAAC
AACATTGTAGCCTCAATCGAGTGAGACAGACTAGAAGTTCCTAGTGAT
GGCTTATGATAGCAAATGGCCTCATGTCAAATATTTAGATGTAATTTT
GTGTAAGAAATACAGACTGGATGTACCACCACTACTACCTGTAATGA
CAGGCCTGTCCAACACATCTCCCTTTTCCATGACTGTGGTAGCCAGCA
TCGGAAAGAACGCTGATTTAAAGAGGTCGCTTGGGAATTTTATTGACA

CAGTACCATTTAATGGGGAGGACAAAATGGGGCAGGGGAGGGAGAAGT.
 TTCTGTCGTTAAAAACAGATTTGGAAAGACTGGACTCTAAAGTCTGTT
 GATTAAGATGAGCTTTGTCTACTTCAAAAGTTTGTGTGCTTACCCCT
 TCAGCCTCCAATTTTTTAAGTGAAAATATAGCTAATAACATGTGAAAA
 GAATAGAAGCTAAGGTTTAGATAAATATTGAGCAGATCTATAGGAAGA
 TTGAACCTGAATATTGCCATTATGCTTGACATGGTTTCCAAAAAATGG
 TACTCCACATATTTCAGTGAGGGTAAGTATTTTCCSTGTTGTCAAGAAT
 AGCATTGTA AAAAGCATTTTGT AATAATAAAGAATAGCTTTAATGATAT
 GCTTGTA AASTAAAATAATTTTGTAATGTATCAAATACATTTAAAACAT
 TAAAATATAATCTCTATAATAA

Условия проведения ПЦР на мутацию 35delG были следующими. Каждая реакционная смесь для ПЦР (суммарный объем 15 мкл) содержала 5,2 мкл ddH₂O, 1,5 мкл 10xПЦР буфера, 1,5 мкл 25мМ MgCl₂, по 1,5 мкл 2,5мМ смеси дезоксинуклеотидтрифосфатов (дАТФ, дЦТФ, дГТФ, дТТФ), по 1,5 мкл(10пкмоль/мкл) каждого олигонуклеотидного праймера, 0,3мкл(1,5ед.) Taq-полимеразы и 2 мкл ДНК. Условия ПЦР для амплификации фрагмента гена Сх26 были следующими: 95°С - 5 мин, затем 45 циклов: 95°С - 30 сек, 62°С -30 сек и 72°С - 40 сек, заключительный цикл - 72°С - 4 мин.

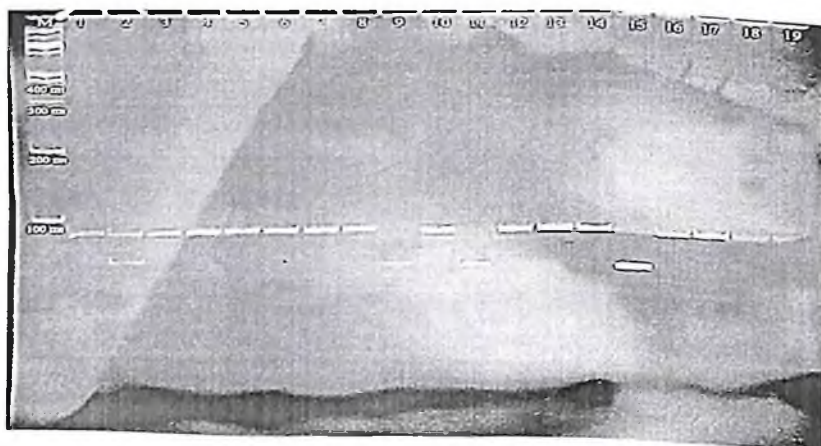


Рис. 2.8. Результаты ПДРФ анализа мутации 35delG (2 образец - гетерозиготная мутация 35delG; 9,11 и 15 образец - гомозиготная мутация 35delG)

После проведения ПЦР продукты амплификации подвергали рестрикции эндонуклеазой DdeI (фирма "Сибэнзим", Новосибирск): рестрикционная смесь включала 3.9 мкл ddH₂O, 1 мкл буфера, 5 мкл ПЦР продукта и 0,2 мкл (2 единицы активности) фермента. Рестрикцию продуктов амплификации проводили в течение 16 ч при 37⁰С..

Полученные продукты рестрикции разделяли методом электрофореза в 9% акриламидном геле с последующим окрашиванием бромидом этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете при помощи трансиллюминатора "WiseDoc WGD-30"(DAIHAN, Корея). Интерпретацию результатов генотипирования проводили на основании различных картин бэндов на электрофореграмме: 89 п.н. -норма(отсутствие мутации), 89 п.н.+60 п.н.-гетерозиготная мутация 35delG, 60 п.н.-гомозиготная мутация 35delG

Данные генотипирования на наличие мутации 35delG у 117 детей с несиндромальными формами НСТ показали, что 20 детей (17,1%) являются гомозиготами по этой мутации, 17 (15,6%) детей имеют только одну мутантную аллель (гетерозиготы), и у 80 (68,4%) детей мажорной мутации 35delG не обнаружено. Помимо 35delG, у 25 больных НСТ проведено также ПЦР исследование 4 наиболее частых мутаций в гене GJB2(Cx26): 235delC, 3202+1G>A (IVS1+1G>A), 313_326del14 и 358_360delGAG (p.Glu120del).

Амплификацию необходимых фрагментов геномной ДНК проводили методом ПЦР в объеме 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 0.1–1.0 мкг геномной ДНК; по 0.25 мкМ каждого олигопраймера ("Синтол", Россия); по 200 мкМ каждого нуклеозидтрифосфата ("Синтол", Россия); 1.0 ед. акт. Taq полимеразы; буфер для ПЦР (67 мМ трисHCl; 16.6 мМ (NH₄)₂SO₄; 1.1–2.4 мМ MgCl₂; 0.01% твин20; pH 8.8); 20–30 мкл минерального масла. В ходе ПЦР проводили 33 цикла амплификации, каждый цикл включал инкубирование образцов при 94⁰С – 45 с, 55–58⁰С – 45 с и 72⁰С – 45 с. Реакцию рестрикции проводили в 20 мкл реакционной смеси: 50–200 нг/мкл амплифицированного фрагмента, 5 ед. акт. нуклеазы *Bse*LI для анализа с.23+1G>A (IVS1+1G>A).

Инкубировали согласно протоколу производителя (“Сибэнзим”, Россия). Результаты амплификации и ПДРФ оценивали с помощью вертикального электрофореза (20 × 20 см) в полиакриламидном геле (9%) с последующим окрашиванием геля раствором бромистого этидия и регистрацией с помощью документирующей системы “WiseDoc WGD-30”(DAIHAN, Корея) в УФ излучении (длина волны 312 нм).

Мутация с. 235delC

норма

TTCCSSATCTCCSACATCCGGSTATGGGCCSTGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGC

↓ **делеция С**

TTCCSSATCTCCSACATCCGGSTATGGGCC-TGCAGCTGATCTTCGTGTCCACGCCAGCGC

Мутацию 235delC в гене GJB2 анализировали с помощью ПЦР с использованием прямого (5'-TTGGTGTTTGCTCAGGAAGA-3') и обратного (5'-GGCCTACAGGGGTTTCAAAT-3') праймеров, расположенных 115 п.н. и 110 п.н. выше и ниже кодирующего экзона, соответственно, с последующим ПДРФ-анализом. 944 п.н. ПЦР-продукт подвергали рестрикции эндонуклеазой AраI.



Рис. 2.9. Результаты ПЦР-ПДРФ анализа мутации 235delC в гене GJB2.

М-ДНК маркер 100, 250, 500, 750, 1000 и 2000 бр .

Интерпретацию генотипов проводили на основании различной картины бэндов на электрофореграмме: в норме - два фрагмента 585 п.н. и 359 п.н. Мутация 235delC приводит к потере сайта

рестрикции *ApaI*, поэтому при гетерозиготной мутации 235delC наблюдаются три бенда - 944, 585, 359 п.н., в то время при гомозиготной мутации после рестрикции присутствует только один бенд 944-п.н.

ПЦР-ПДФ анализ мутации 235delC показал отсутствие данной мутации в исследованных образцах.

Мутация 313_326del14

норма

TACCGGAGACATGAGAAGAAGAGGAAGTTCATCAAGGGGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACA

↓делеция 14 нуклеотидов

TACCGGAGACATGAGAAGAAGAGG-----GGAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACA

Мутацию 313_326del14 в гене GJB2 анализировали с помощью ARMS-ПЦР с использованием следующих праймеров:

Forward wt primer ATGAGCAGGCCGACTTTGTC

Reverse wt primer CACTCTTTATCTCCCCCTTGATGAACTT

Forward mut primer GAAGAAGAGGGGAGATAAAGAGTG

Reverse mut primer GTGACATTCAGCAGGATGC

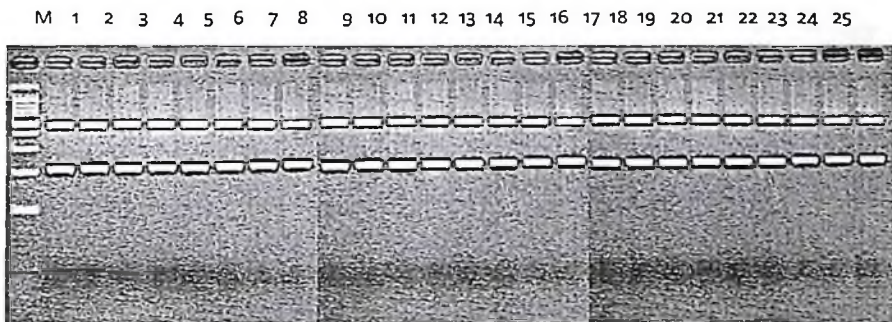


Рис. 2.10. Результаты ARMS-ПЦР анализа мутации 313_326del14 в гене GJB2. М-ДНК маркер – 100,200,300,400,500 bp и т.д.

Интерпретацию генотипов проводили на основании различной картины бэндов на электрофореграмме: норма – 487+204pb, гетерозиготная мутация 313_326del14 - 487+307+204pb, монозиготная мутация 313_326del14 - 487+307 pb

ARMS-ПЦР анализ мутации 313_326del14 показал отсутствие данной мутации в исследованных образцах

Мутация 358_360delGAG

норма

GAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAGGAGATCAAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCT

↓3 нуклеотидная делеция

GAGATAAAGAGTGAATTTAAGGACATCGAG---ATCAAAAACCCAGAAGGTCCGCATCGAAGGCT

Мутацию 358_360delGAG в гене GJB2 анализировали с помощью ПЦР с использованием Forward (5'-CACGCTGCAGACGATCCTGG -3 ') и Reverse (5'-CAAAGCAGTCCACAGTGTGG -3') праймеров. Затем ПЦР-продукт подвергали рестрикции эндонуклеазой BseRI.

Интерпретацию генотипов проводили на основании различной картины бэндов на электрофореграмме: норма - 359 + 174 bp, гетерозиготная мутация 358_360delGAG - 533+359 +174 bp, гомозиготная мутация 358_360delGAG - 533bp.

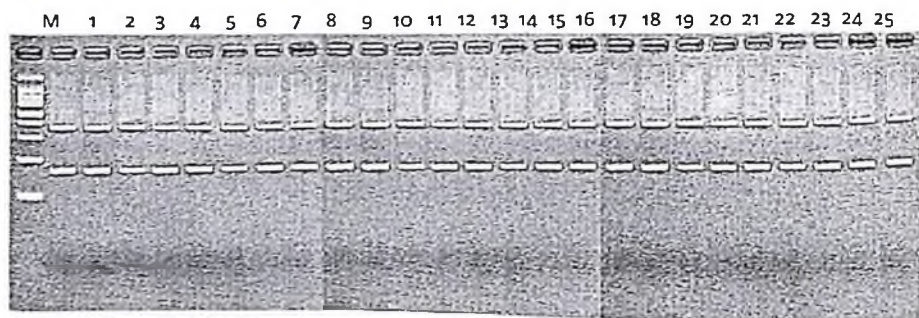


Рис. 2.11. Результаты ПЦР-ПДРФ анализа мутации 358_360delGAG в гене GJB2. М-ДНК маркер - 100,200,300,400,500 bp и т.д.

ПЦР-ПДРФ анализ мутации 358_360delGAG показал отсутствие данной мутации в исследованных образцах

Мутация с. -23+1G>A(IVS1+1G>A)

норма

CCGGCCCCGCGCGCTTCCTCCCGACGCGAGGTGAGCCC GCCGGCCCCGGACTGCCCGGCCAG

↓ мутация

CCGGCCCCGCGCGCTTCCTCCCGACGCGAGATGAGCCC GCCGGCCCCGGACTGCCCGGCCAG

Мутацию - 23+1G>A (IVS1+1G>A) в гене GJB2 анализировали с помощью ПЦР с использованием прямого СССТССGТAACTTTCCСAGT и обратного ССАAGGACGTGTGTTGGTC праймера. Затем полученные ПЦР продукты подвергали рестрикции эндонуклеазой HphI.

Интерпретация генотипов на электрофореграмме: в норме - 242 bp + 118 bp, гетерозиготная мутация - 23+1G>A - 360 bp+242 bp + 118 bp, монозиготная мутация -23+1G>A -360 bp. Детекция мутаций с. 235delC, 313_326del14 и 358_360delGAG (р. Glu 120del осуществлялась методом мультиплексной ПЦР с последующим ПДА Фанализом (анализ полиморфизма длины амплифицированных фрагментов), а детекция мутации с. 23+1G>A (IVS1+1G>A) проводилась методом ПДРФ. анализа.

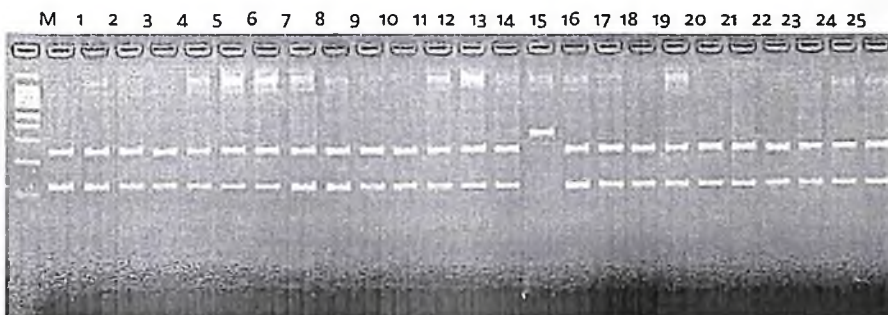


Рис.2.12. Результаты ПЦР-ПДРФ анализа мутации - 23+1G>A(IVS1+1G>A) в гене GJB2. М-ДНК маркер - 100,200,300,400,500 bp и т.д.ПЦР-ПДРФ анализ показал наличие гомозиготной мутации -23+1G>A(IVS1+1G>A)в 15 образце

Для секвенирования по Сенгеру использовали фрагменты ДНК, полученные в ходе ПЦР (5'-3' последовательность праймеров: ex1F - CCGCCCCCTCCGТААСТТТСС, ex1R-CCAGGТТССТGGCCGGGC AGTC, ex2F-GTGATTCCTGTGТТGTGTGCATTC, ex 2R-CCTCATCCCTCT C ATGCTGTC), с применением набора реактивов ABI Dye Terminator, version 1 ("Applied Biosystems") с последующим анализом на приборе 3130ABI genetic analyzer ("Applied Biosystems", США). Полученные хроматограммы анализировали с помощью программы Chromas version 2 ("Technelysium").

Таблица 2.5

Последовательность праймеров для ПЦР

мутации в гене <i>GJB2(Cx26)</i>	5'-3' последовательность олигонуклеотидов
с. 35delG	F GCTGGTGGAGTGTТТGTTCACACCCTC
	R TCTТТТCCAGAGCAAACCGC
с. 313_326del14, с. 358_360delGAG (p. Glu120del)	F_GCACGTGGCCTACCGGAGAC
	R_GAGCCTTCGATGCGGACCTTC
с. 235delC	F_CACTACTTCCCCATCTCTCAC
	R_GTGGACACGAAGATCAGCTGC
(IVS1+1G>A)	F_GCGCTTCCTCCCGACGCAG
	R_CCAGGТТCCTGGCCGGGCAGTC

2.4. Техника расчета при статистической обработке результатов панмиксной и инбредной групп

Достоверность (P) сравниваемых величин, определяли по таблице факториалов с использованием критерия χ^2 , вычисляемого по формуле Holdene : $\chi^2 = Wy^2$ с учетом одной степени свободы - df=1, где:

$$W = \frac{y}{v}, V = \frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d} \text{ и } y = \ln RR$$

После преобразования конечная формула приобретает следующий вид:

$$\chi^2 = \frac{(a+0,5) \times (d+0,5)}{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}} \quad \text{Если хотя бы одна из величин } a, b, c, d$$

равна 1, то достоверность различий в частоте встречаемости генов и гаплотипов рассчитывается с помощью χ^2 с поправкой на Йейтса на непрерывность выборки:

$$\chi^2 = \frac{(a \times b + b \times c)^2 \times N}{(a+b) \times (c+d) \times (a+c) \times (b+d)} \quad \text{Значение } \chi^2,$$

превышающее 3,841 (что соответствует $P < 0,05$), рассматривается как показатель достоверной разницы между частотными характеристиками в сравниваемых группах.

Кроме этого использовался модифицированный метод В. Woolf (1995), показывающий отношение преобладания (RR), рассчитываемый по формуле

$$RR = \frac{P \cdot (100 - P1)}{P1 \cdot (100 - P)}$$

При отрицательной ассоциации (RR меньше 0,05), при положительной ассоциации (RR равно или больше 2). Здесь P-частота признака больного; P1-частота признака в контрольной группе.

Для определения типа наследования НСТ в панмиксной популяции применялся метод Вайнберга (Бочков Н. Л., 1984)

$$SF = \frac{R - N}{T - N}$$

$$\delta = \frac{SF \cdot (1 - SF)}{T - N}$$

где SF – наблюдаемая сепарационная частота;

δ - стандартное отклонение;

R - общее число пораженных в выборке;

T - общее число sibсов в выборке;

N - число семей в выборке.

Для определения доли влияния инбридинга на течение НСТ, оценки его коэффициента (F), использовалась формула Райта (Бочков Н.П., 1982)

$$F = \sum (1/2)^{n-1}$$

где F - коэффициент инбридинга;

n - число ступней передачи гена от каждого признака.

Для оценки риска рождения с рецессивным заболеванием использовалась полуэмперическая формула:

$$P = \frac{1}{2} \cdot F \cdot n$$

где F - коэффициент инбридинга; n - среднее число вредных генов в гетерозиготном состоянии у индивидуума. Величина примерно равна 4-5 (Vogel F., Motulsky A.G., 1979).

Для получения конкретных данных о доле гомозиготности с различными коэффициентами инбридинга в кровнеродственных браках использовалась формула (Smith CH., 1970):

$$H = qF + q(1 - F)$$

где F - коэффициент инбридинга; q - частота гена; H - доля гомозигот. Оценка наследуемости подверженности к НСТ с позиции мультифакториальной природы проводилась по аппроксимирующим формулам.

Данные статистической обработки в диссертации представляли в виде $M \pm SD$ (M - среднее арифметическое; SD - среднее квадратическое отклонение). Статистический анализ данных проводили при помощи пакета программ Statistica 5,0. использовали критерий Манна-Уитни (T - критерий) для сравнения независимых выборок, критерий Уилкенса для сравнения связанных выборок (показатель W), критерий Дана (значение Q) для множественных сравниваемых групп, t - критерий Фишера для сравнения относительных показателей. Критический уровень значимости принимали при $P \leq 0,05$.

2.5. Статистическая обработка

Полученные при исследовании данные подвергли статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV

с помощью программного пакета Microsoft Office Excel-2012, включая использование встроенных функций статистической обработки. Использовали методы вариационной параметрической и непараметрической статистики с расчетом средней арифметической изучаемого показателя (M), среднего квадратического отклонения (σ), стандартной ошибки среднего (m), относительных величин (частота, %).

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО- АУДИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДО И ПОСЛЕ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Результаты комплексного аудиологического исследования детей с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью

Всего проведено подробное аудиологическое обследование 117 пациентов, 234 ушей. В результате обследования выявлено степень потери слуха на лучше слышащем ухе II степени 12 (10,2%), III степени 37,6% (n=44), IV степени 35,0% (n=41) и с глухотой 17,1% (n=20) (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Распределение пациентов с диагнозом сенсоневральная тугоухость по степени снижения слуха

Степень снижения слуха	II степень, n=12	III степень, n=44	IV степень, n=41	Глухота, n=20	Всего, n=117
Число пациентов (%)	10,2	37,6	35,0	17,1	100,0

Тональная пороговая аудиометрия была проведена у 57 больных (114 ушей), возраст которых на момент обследования был старше 7 лет, проведение игровой аудиометрии не всегда считался достоверным ввиду чего нами результаты игровой аудиометрии не фиксировались.

Для определения степени потери слуха необходимо определить среднее арифметическое порогов воздушной проводимости на частотах 500, 1000, 2000, 4000 Гц и сравнить со значениями в таблице. Значения средней потери слуха (в дБ) у больных с НСТ представлены в таблицах 3.2-3.5.

У больных при потере слуха на лучше слышащее ухо II степени отмечено нисходящая кривая со средней потерей слуха до 50 дБ, однако если рассматривать кривую у большинства больных потеря слуха при акустических стимулах на 8кГц была значительно

ниже 50 дБ, а при низких частотах даже оказывалась в нормальных диапазонах, что подтверждалось исследования субъективного характера – сурдопедагогами – наличие положительной реакции на низкочастотные раздражители.

Таблица 3.2
Усредненные показатели значения средней потери слуха у больных с НСТ II степени

Гц	250	500	1000	2000	4000	8000
левос ухо	14,9±1,3	21,3±1,5	44,9±2,7	56,4±1,2	67,8±3,7	71,3±3,2
правос ухо	14,6±1,9	25,4±1,7	45,9±1,3	57,7±2,2	66,8±2,1	70,7±2,1

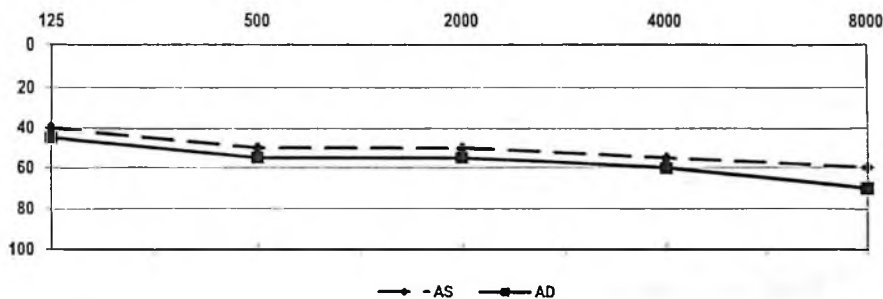


Рис. 3.3. Аудиометрические кривые больных II степени НСТ

При III степени потери слуха у больных выявлялись более глубокие изменения аудиометрических кривых, без наличия высокого пика на низких частотах, более горизонтальная кривая, с падением слуховой функции на высоких частотах 8КГц до 90дБ, однако в частотном диапазоне речевой зоны слуховая функция была стабильна.

Таблица 3.3
Усредненные показатели средней потери слуха у больных с НСТ III степени

Гц	250	500	1000	2000	4000	8000
Левос ухо	17,2±1,3	39,6±1,2	67,7±1,5	74,1±1,6	81,9±1,3	89,5±2,4
Правос ухо	16,4±1,9	38,8±1,4	65,8±1,2	76,9±1,4	84,1±1,4	91,7±2,2

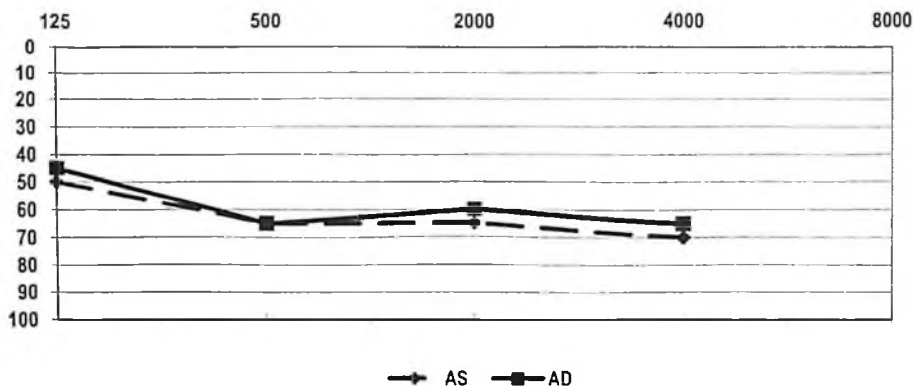


Рис. 3.4. Аудиометрические кривые больных III степени НСТ

При слуховой функции IV степени восприятие слуха фиксировалось на уровне от 60 до более 90дБ, при этом часто на высоких частотах отмечено отсутствие ответов на акустические стимулы более 4 кГц с резким обрывом аудиометрической кривой.

Таблица 3.4
Усредненные показатели средней потери слуха у больных с НСТ IV степени

Гц	250	500	1000	2000	4000	8000
Левое ухо	29,4±1,7	58,3±1,6	79,3±2,1	87,7±3,4	96,9±3,3	97,1±4,6
Правое ухо	31,4±1,4	57,8±1,3	77,8±1,4	86,4±4,5	95,2±4,3	97,8±5,9

Как видно из рисунка 3.1-3.3 при проведении тональной аудиометрии пороги слуха были зарегистрированы во всем частотном диапазоне у 28.6%. В большинстве случаев – 68,9% были зарегистрированы пороги только на низких частотах. У 3,4% пациентов слуховые реакции не были зарегистрированы во всем частотном диапазоне.

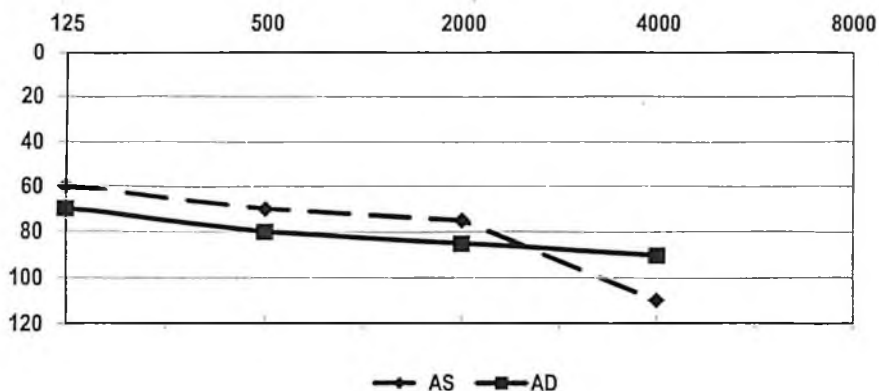


Рис. 3.5. Аудиометрические кривые больных IV степени НСТ

Данные тимпанометрии и исследования слухового рефлекса, проводимые на Авто Тимп GSI-38, представлены в таблице 3.5.

В 138 ушах (IV степени НСТ и глухота) мы не получили регистрации акустического мышечного рефлекса во всем диапазоне частот, хотя на низких частотах у 24 из них получена регистрация рефлекса при максимальной громкости стимула. У пациентов с при II, III степени НСТ отсутствие слуховых рефлексов наблюдали соответственно в 17,6% и 23,2% случаев. При II ($99,26 \pm 2,36$; $102,32 \pm 1,78$) и III ($101,85 \pm 3,25$; $104,32 \pm 4,68$) степени они были повышены. У всех обследуемых пациентов при проведении импедансометрии была получена тимпанограмма типа «А».

Таблица 3.5

Средние значения импедансометрии у больных НСТ

Степень НСТ	Градиент (декаПа)	Уровень громкости (ДБ)		Пик подвижности (см ³)	Пиковое давление (декаПа)	Объем слухового прохода (см ³)
		ипси	контра			
II-III	$69,67 \pm 2,32$	$91,46 \pm 1,76$	$95,73 \pm 2,67$	$0,88 \pm 0,12$	$-2,57 \pm 0,04$	$1,96 \pm 0,08$
III	$67,82 \pm 1,12$	$99,26 \pm 2,36$	$102,32 \pm 1,78$	$0,84 \pm 0,09$	$-2,72 \pm 0,06$	$1,82 \pm 0,02$
IV	$61,97 \pm 3,46$	$101,85 \pm 3,25$	$104,32 \pm 4,68$	$0,76 \pm 0,02$	$-5,48 \pm 0,07$	$1,87 \pm 0,07$

Таким образом, анализ данных импедансометрии показал максимальные изменения у пациентов с III и IV степенями НСТ. По результатам акустического рефлекса у всех пациентов выявлена нейросенсорная тугоухость различной степени выраженности, диссоциация или выпадение ипси- или контралатеральных рефлексов, а именно патологические изменения акустических рефлексов в виде повышения порогов, уменьшения амплитуды и увеличения латентностей ипси- и контралатеральных рефлексов в диапазоне частот 500-4000 Гц.

Наибольшее повышение порогов (15-20 дБ) получено при регистрации контралатеральных рефлексов с двух сторон (10 больных) и одностороннее (5 больных). При сопоставлении ипси- и контралатеральных рсфлексов выявлены выпадение или их диссоциация, заключающаяся в наличии ипси- и отсутствия контралатеральных рефлексов.

Определение порогов дискомфорта проводили по общепринятой методике на частотах 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 Гц, плавно усиливая звук, отмечают на аудиограмме уровень его интенсивности, при которой у пациента появляются неприятные ощущения.

Таблица 3.6

Средние значения величины порогов слухового дискомфорта (дБ) (n=86)

Частота (Гц)	II-III степень НСТ	III степень НСТ	IV степень НСТ	Норма
250	74,36±0,78	68,78±0,99***	65,43±0,87***	75,53±0,63
500	79,56±1,1	73,56±1,3***	69,9±0,78***	82,12±0,9
1000	83,34±0,98	71,23±1,1***	66,1±1,2***	85,27±0,86
2000	81,74±1,2***	71,65±0,86***	61,78±0,97***	87,64±1,2
4000	80,63±0,87	77,21±1,1***	66,36±0,98***	82,35±0,78
8000	75,67±1,4	71,32±0,89***	66,42±1,23***	76,44±1,1

Примечание: * - различия относительно данных контрольной группы значимы (***) - P<0,001)

Средние значения величины порогов слухового дискомфорта у пациентов с различной степени НСТ представлены в таблице 3.7. В норме в зависимости от частоты он равен 70-100 дБ. Изменения порогов дискомфорта выявили при II степени тугоухости у - 47% (109 ушей), при III - 53% (124 уха), при IV - 61% (143 уха) (табл. 3.6).

Таблица 3.7

Средние значения динамического диапазона у больных с II степенью ННСТ (дБ) (n=12)

Гц	250	500	1000	2000	4000	8000
Левое ухо	59,43±0,96	58,22±0,48	39,35±1,14	25,31±0,97	12,74±2,57	4,36±0,84
Пр. ухо	59,75±1,12	54,15±1,13	37,37±1,14	24,00±1,32	13,87±1,23	5,67±0,69

Результаты исследования динамического диапазона (ДД) у больных НСТ представлены в таблицах 3.7. – 3.9. ДД слуха значительно уменьшается при сенсоневральном снижении слуха. Узкий ДД остаточного слуха ниже или равный 20 - 25 дБ искажает у слабослышающих мгновенные изменения уровней звукового давления речевых сигналов.

Таблица 3.8

Средние значения динамического диапазона у больных с III степенью ННСТ (дБ) (n=44)

Гц	250	500	1000	2000	4000	8000
Левое ухо	52,73±1,4	39,57±1,17	-3,54±0,54	-2,05±0,74	-4,23±0,85	-18,15±0,63
Правое ухо	52,37±1,1	33,75±0,94	-5,04±0,76	-4,95±0,64	-6,24±0,74	-19,42±0,82

Таблица 3.9

Средние значения динамического диапазона у больных с IV степенью ННСТ (дБ) (n=41)

Гц	250	500	1000	2000	4000	8000
Левое ухо	36,05±0,74	11,57±0,68	-13,19±0,46	-25,95±0,74	-30,53±1,12	-26,71±0,84
Правое ухо	34,02±1,39	12,05±0,54	-11,67±0,94	-24,6 ±1,13	-28,10±0,82	-31,39±0,94

Таким образом, исследование импедансометрии и тимпанометрии так же позволяет предварительно косвенно выявить глубокие потери слуха, что однако требует дальнейшего более расширенного изучения потери слуха.

С 80-х годов 20 века для оценки состояния слуховой функции наряду с другими объективными аудиологическими методами (импедансометрия, регистрация длинно - и среднелатентных вызванных потенциалов) широко применяется регистрация объективной аудиометрии отоакустической эмиссии и КСВП [46, 47, 75, 94]. Результаты этого метода используются и при подборе и настройке СА у детей раннего возраста [38].

Результаты исследования отоакустической эмиссии исследование проведено у больных группы с предположительно ННСТ (n=117, 234 уха).

При поведении ПИОАЭ слуховая функция не зарегистрирована у 114 (97,4%) детей на оба уха, у двоих (1,7%) слуховая функция зарегистрирована на оба уха и у одного ребенка тест не пройден на одно ухо (0,8%). При проведении ПИОАЭ производится ДР-грамма, при этом отмечено уменьшение амплитуды графика ПИОАЭ, что регистрируется тоном который является результатом тонов и F1 (2F1 - F2). Зарегистрированные результаты тестов показаны на рисунке 3.6. по рисунку можно определить что характер амплитудно-частотных кривых неодинаков с обеих сторон. Максимальное значение амплитуды было выявлено на частоте 988 Гц и 4кГц - 6,7 6,3 дБ соответственно, что позволяет думать что участки мембраны кортиева органа, ответственные за данные частоты отличаются по зрелости от других участков. При этом в 234 исследованиях ПИОАЭ в 41% (96 ушей) случаев выявлены такие ДР-граммы с положительными ответами (один или два пика)при определенных частотах.

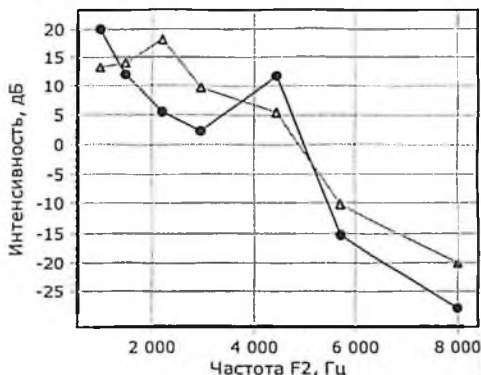
Обследование методом ЗВОАЭ дало следующие результаты: у ребенка не прошедшего тест ПИОАЭ на одно ухо при ЗВОАЭ оба уха не прошли тест и процент не прошедших тест стал 115 (98,2%) детей, двое не прошедших тест ПИОАЭ так же подтвердили

отрицательный результат не пройдя тест на ЗВОАЭ. Количественное сопоставление ответов по двум тестам отоакустической эмиссии по её двум классам выявило однотипные результаты.

ПАОАЭ: ПАОАЭ (базовый)

Результат теста (правое ухо): Не прошел

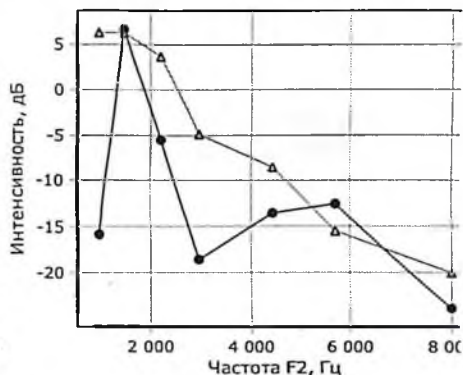
диаграмма продукта искажения (Правое ухо)



● Продукт искажения
▲ Шум

Результат теста (левое ухо): Не прошел

диаграмма продукта искажения (Левое ухо)



● Продукт искажения
▲ Шум

Анализ ПАОАЭ (Правое ухо)

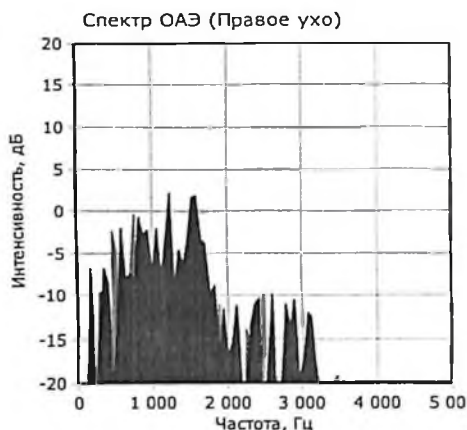
F2, Гц	F1, дБ	F2, дБ	ПИ, дБ	Шум, дБ	С/ш, дБ	ОАЭ
988	66,6	52,6	19,91	13,25	6,7	✓
1481	64,6	54,5	12,12	14,21	-2,1	✗
2222	65,0	55,0	5,49	18,03	-12,5	✗
2963	65,3	55,2	2,24	9,71	-7,5	✗
4444	65,9	55,9	11,89	5,62	6,3	✓
5714	66,0	55,8	-15,22	-10,13	-5,1	✗
8000	65,8	56,2	-28,14	-20,00	-8,1	✗

Анализ ПАОАЭ (Левое ухо)

F2, Гц	F1, дБ	F2, дБ	ПИ, дБ	Шум, дБ	С/ш, дБ	ОАЭ
988	63,2	53,3	-15,81	6,31	-22,1	✗
1481	64,6	54,4	6,56	6,32	0,2	✗
2222	64,7	54,9	-5,52	3,61	-9,1	✗
2963	65,4	55,2	-18,50	-4,77	-13,7	✗

Рис. 3.6. Больной ИБ№4760/390 Результаты тестов у больных с НСТ методом ПАОАЭ

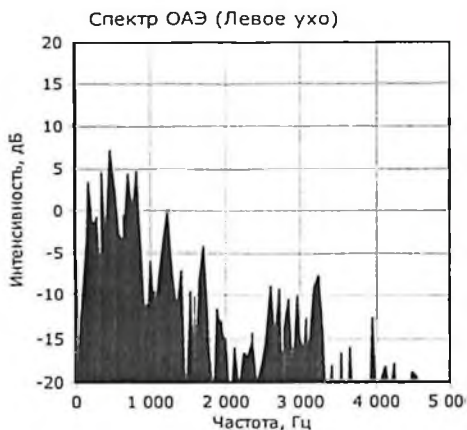
Результат теста (правое ухо): Не прошел



Анализ ОАЭ (Правое ухо)

Стимул, дБ	75,0
Стаб. стим., %	99,0
A&V среднее, дБ	8,3
A-B среднее, дБ	13,58
Отклик, дБ	0,2
Воспроизводимость, %	8,4

Результат теста (левое ухо): Не прошел



Анализ ОАЭ (Левое ухо)

Стимул, дБ	74,5
Стаб. стим., %	98,1
A&V среднее, дБ	10,8
A-B среднее, дБ	16,16
Отклик, дБ	2,2
Воспроизводимость, %	7,5

Частоты ОАЭ (Правое ухо)

Част., кГц	1	2	3	4	5
Воспр., %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Сигнал, дБ	1,1	0	-12	-25	0
Шум, дБ	7,7	3,9	-3,4	-14	-18
С/ш, дБ	-6,6	0	-9,1	-12	0
ОАЭ					

Частоты ОАЭ (Левое ухо)

Част., кГц	1	2	3	4	5
Воспр., %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Сигнал, дБ	0	-14	-6,9	0	0
Шум, дБ	10	-0,6	-2,5	-7,4	-15
С/ш, дБ	0	-13	-4,4	0	0
ОАЭ					

Рис. 3.7. Больной ИБ№4760/390 Результаты тестов у больных с НСТ методом ЗВОАЭ

При этом на этих же частотах при ЗВОАЭ пиков амплитуды не отмечено, что подтверждает литературные данные о более высокой чувствительности метода ПИОАЭ по сравнению с ЗВОАЭ.

Результаты исследования объективной аудиометрии (КСВП)

Порог КСВП - минимальный уровень звукового стимула, при котором регистрируется КСВП ответ (как правило пик V). Порог КСВП на короткие тональные посылки и широкополосные щелчки является показателем оценки снижения слуха, что особенно важно в комплексной диагностике слуха детей младшего возраста.

Многочисленными исследованиями установлено, что пороги КСВП на короткие тональные посылки частотой 500, 1000, 2000 и 4000 Гц регистрируются при уровне стимула примерно на 5-20 дБ выше аудиометрических порогов слышимости этих частот. Таким образом, по порогам КСВП тональные посылки можно с достаточной точностью оценить пороги слышимости на аудиометрических частотах, которые затем использовать для подбора и настройки (программирования) слухового аппарата.

Исследования детей до 5 лет проводили в утренние часы, после кормления, в состоянии естественного сна, чтобы избежать увеличения количества артефактов за счет двигательного беспокойства. Прибор позволяет автоматически регистрировать КСВП.

Всех детей обследовали поэтапно, начиная со скрининг-теста (FSS), затем переходили к регистрации КСВП при пошаговой временной стимуляции от 10 до 70 дБ и стандартного ABR-потенциала — от 20 до 70 дБ. Эпоха анализа КСВП составляла 10-15 мс от начала стимула. Престимульный интервал при усреднении с упреждением не входил в эпоху анализа. Для регистрации задержанных ответов использовали эпоху анализа 15 мс. Регистрируемые вызванные потенциалы включали в себя семь позитивных пиков I-VII. Рассматривались их абсолютные латентности, межпиковые интервалы I-III, III-V, I-V, амплитуды и их различия в зависимости от стороны стимуляции и рассматриваемого отведения (табл. 3.10) [67, 103].

Порог КСВП зарегистрирован при стимуляции уровнем звукового давления 10 дБ нПС, о чем свидетельствует наличие пика V (рис. 3.3). По мере увеличения уровня стимуляции морфология КСВП становится более четкой, амплитуда пиков увеличивается.

Таблица 3.10

Физиологическая интерпретация генерации источников компонентов КСВП у человека Пик	Источник генерации
I	Дистальная часть слухового нерва (потенциал действия слухового нерва)
II	Проксимальная (интракраниальная, но экстрамедуллярная) часть слухового нерва и часть кохлеарных ядер
III	Билатеральный верхний оливарный комплекс
IV	Восходящие слуховые волокна в ростральной части моста, боковая петля
V	Нижние бугры четверохолмия
VI	Медиальное колеччатое тело
VII	Дистальная часть слуховой иррадиации

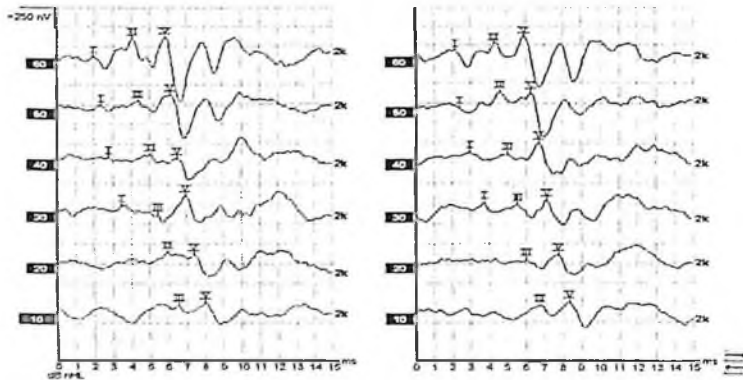
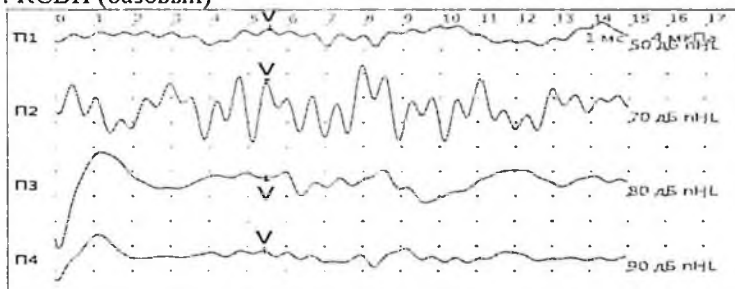
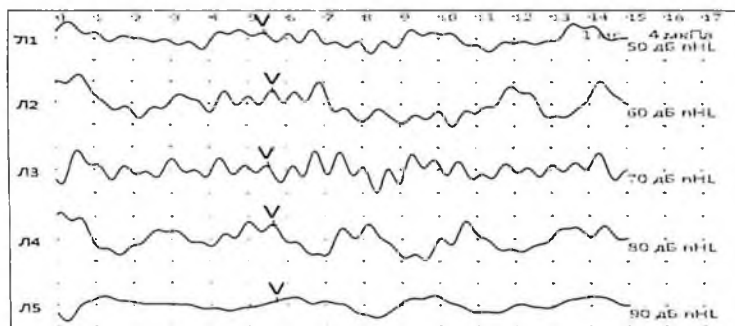


Рис. 3.7. Результат регистрации КСВП нормально слышащего обследуемого при стимуляции тональными посылками частотой 2000 Гц правого уха (красный цвет) и левого уха (синий цвет) уровнем звукового давления от 10 до 60 дБ нПС с шагом 10 дБ.

КСВП: КСВП (базовый)



1: Cz-M



Латентности и амплитуды (правое ухо)

N	Стимул	I (мс)	III	V	I-III (мс)	III-V	III-IIIa/V-Va
П1	50 дБ nHL			5,53			
П2	70 дБ nHL			5,48			
П3	80 дБ nHL			5,48			
П4	90 дБ nHL			5,45			

Латентности и амплитуды (левое ухо)

N	Стимул	I (мс)	III	V	I-III (мс)	III-V	III-IIIa/V-Va
Л1	50 дБ nHL			5,42			
Л2	60 дБ nHL			5,66			
Л3	70 дБ nHL			5,53			
Л4	80 дБ nHL			5,64			
Л5	90 дБ nHL			5,72			

Асимметрия

N	Стимул	I	III	V	I-III	III-V
П1, Л1	50 дБ nHL			0,11		
П2, Л2	70 дБ nHL			0,05		
П3, Л4	80 дБ nHL			0,16		
П4, Л5	90 дБ nHL			0,26		

Рис. 3.8. Больной ИБ№ 6947/543 Результат регистрации КСВП у больного с НСТ стимуляции тональными посылками частотой 2000 Гц правого уха (красный цвет) и левого уха (синий цвет) уровнем звукового давления от 10 до 60 дБ nПС с шагом 10 дБ

Регистрация КСВП при пошаговой временной стимуляции была произведена у 117 детей (234 уха). Результаты обследования представлены в табл. 3.1.12. Патологические изменения КСВП заключались в снижении амплитуды III-V пиков и удлинении латентных периодов между ними по сравнению с нормой. Исследование КСВП показало удлинение межпикового интервала 3-5 пиков (норма меньше чем 4.0 м сек). Уменьшилась амплитуда пиков во всем диапазоне интенсивностей, удлинились латентные периоды, V пик по сравнению с нормой сдвинулся вниз и влево (рис. 3.8).

Таблица 3.11

**Регистрация КСВП при пошаговом временном стимуле у детей
(n=117, 234 ушей)**

пик V, дБ	Количество ушей	%
50	18	8,5
60	12	5,1
70	62	26,5
80	64	27,3
≥90	48	20,5
Не регистрировалась	30	12,9

На основании приведенных выше данных можно сделать вывод, что V волна регистрируется на уровне интенсивности стимулирующего сигнала до 50-60 дБ в 12,9% случаев (30 ушей). В 53,4% случаев (128 ушей) пятый пик регистрировался на уровне 70-80дБ, 12,9% - пятый пик не поддавался анализу из за большого числа артефактов или вовсе не регистрировался и результаты не поддавались анализу (табл. 3.11).

При сравнении КСВП группы с предположительно ННСТ и НСТ экзогенными причинами у детей с ННСТ слуховые вызванные потенциалы характеризовались повышением латентных периодов (в среднем, 25 мс), и снижением амплитуды. Эта тенденция сохранялась в генерации всех компонентов слуховых вызванных потенциалов: N1, P2, N2. Для компонента N1 детей с НСТ экзогенными причинами было характерно уменьшение латентного

периода и амплитуды в T4 и Cz. P2 компонент у детей с приобретенной тугоухостью был выражен в височных областях, его амплитуды были снижены.

Поздние компоненты слуховых вызванных потенциалов у слабослышащих детей характеризовались длительными латентными периодами и низкими амплитудами. У детей с приобретенной нейросенсорной тугоухостью отсутствовали межполушарные различия в генерации слуховых вызванных потенциалов, в отличие от детей с ННСТ.

В старших возрастных группах у детей с ННСТ происходило снижение латентных периодов и амплитуды компонентов слуховых вызванных потенциалов. Латентные периоды компонентов Cz-области были выше, чем в височных областях. У детей с приобретенной нейросенсорной тугоухостью отмечено отставание в генерации P1, N1, N2 и P3 в области Cz. Таким образом, при тугоухости во всех возрастных группах и вне причин развития НСТ снижены латентные периоды и увеличены амплитуды компонентом вызванных потенциалов.

Как показал анализ, есть определенная корреляция между результатами регистрации КСВП. Обращает на себя внимание, что в группе пациентов с незарегистрированными во всем частотном диапазоне ответами в 13% случаев визуализировался КСВП. Коэффициент корреляции порогов регистрации КСВП для всех частот в среднем по группе составил 0.33. Коэффициент корреляции порогов визуализации КСВП для частот 2-4 кГц был выше и составил 0.53.

Пример 1. Больной X., 5,3 года ИБ №12019/767

Диагноз: Нейросенсорная тугоухость III-IV степени. Анамнез – неясная этиология, семья с неотягощённым анамнезом. При аудиологическом исследовании выявлено AD – визуализация V пика 70-75 дБ, AS – визуализация V пика 85 дБ. Сурдопедагогическое обследование ребенка показало, что ребенок с помощью слуховых аппаратов различает знакомые слова, произносимые голосом разговорной громкости на расстоянии до 3 м, говорит 2-3-х словные предложения и пользуется фразовой

речью при общении с окружающими людьми. Однако в реальной ситуации ребенок воспринимает речь только зрительно-слуховым способом. Его словарный запас состоял только из слов, которые он осваивал в процессе занятий с сурдопедагогом. Спонтанного накопления словарного запаса в ежедневных ситуациях общения у ребенка не происходило. На основании данных сурдопедагогического обследования было принято решение о целесообразности проведения КИ данному ребенку. Этот случай демонстрирует, что при принятии решения о необходимости проведения КИ конкретному пациенту следует руководствоваться результатами всего комплекса аудиологических и сурдопедагогического и генетического обследований.

Другие тесты (при наличии соответствующего оборудования и опытного персонала), уточняющие состояние слуха ребенка с выявленной тугоухостью (тип, степень, частотно-специфические пороги звуковосприятия), можно провести сразу же (акустическая импедансометрия, регистрация ОАЭ, регистрация КСВП), что дает возможность подготовить и провести раннее слухопротезирование и, при глубоких поражениях слуха, ускорит подготовку к кохлеарной имплантации, существенно повысив конечный эффект реабилитации.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что регистрация КСВП, дополненная данными комплексного аудиологического исследования представляет несомненную ценность в качестве объективного метода оценки слуховой функции у больных тяжелыми степенями тугоухости при расширенном клиническом исследовании.

Широкое внедрение данного метода в практическое здравоохранение будет способствовать ранней диагностике слуховых нарушений у новорожденных детей и более точной диагностике НСТ, следовательно, обеспечит профилактику развития тугоухости. Особенно это утверждение правомочно применительно к детской практике, как из-за невозможности применения у детей раннего возраста психофизических тестов, так и в свете феномена слуховой депривации.

3.2. Результаты клинико-аудиологических показателей у больных детей с несиндромальной НСТ, связанные с мутациями в гене Sx 26

Частота измененного генотипа в обследованной группе несиндромальных нарушений слуха в целом составила 31,6% (n=37) независимо от степени тяжести возраста выявления и семейного анамнеза.

Согласно проведенному анализу данных распространенность измененного генотипа соответствовала степени нарушения слуха.

При анализе генетической характеристики определенной степени тугоухости независимо от данных семейного анамнеза мы получили следующую картину. При глухоте данная мутация была выявлена в 35,1% (13 больных), при тяжелой НСТ IV и III степень 18 больных (48,6%) и 6 больных (16,2%) соответственно. При средней степени (II степень) потери слуха больных случаев с измененным генотипом не выявлено. При анализе данных мы предположили, что распространенность измененного генотипа может быть связана с возрастом первичной диагностики или выявления тугоухости, что иногда упрощенно называют возрастом «начала» тугоухости.

Согласно полученным нами данным, чем меньше возраст, когда нарушение слуха было замечено, тем выше была - частота определения мутации 35delG в гене Sx26. Для семей со слышащими родителями при несиндромальных нарушениях слуха, выявленных до года, процент данной делеции составил 57,5%. Для несиндромальных нарушений слуха, выявленных в год, уровень мутации снизился до 49%. Для несиндромальной тугоухости, выявленной от года до трех лет, измененный генотип определен лишь в 41%.

Основной клинической характеристикой нарушения слуха является степень тяжести тугоухости. В обследованной нами группе в целом все степени тяжести нарушения слуха были представлены в той или иной мере. Глухота имела место в 17,1% (n=20) случаев, IV и III степень тяжести присутствовали у 72,6% (n=85) пробандов (глава III, табл. 3.1).

Все дети с мутацией в 35delG имели двустороннюю НСТ с преобладанием тяжелых нарушений слуха, которые составили 83,8% (n=31). Двусторонняя глухота была отмечена в 35,1% (n=13), НСТ IV степени – 48,6% (n=18), и НСТ III степени – 16,2% (n=6). При отсутствии делеции двусторонняя глухота, НСТ IV степени и НСТ III степени составили 8,7% (n=7), 28,7% (n=23) и 47,5% (n=38) соответственно. Это согласуется с литературными данными. Небольшая асимметрия поражения органа слуха была зарегистрирована только у 8% гомозигот по делеции. Двусторонняя НСТ III степени в группе гомозигот и гетерозигот по делеции составила 42,85%, против 31,18% в группе негативной по мутации.

Тугоухость II степени имели 10,2% (n=12) пациентов с ННСТ. Случаев измененная ДНК среди пробандов с мутацией в 35delG с поражением слуха II степени не отмечено.

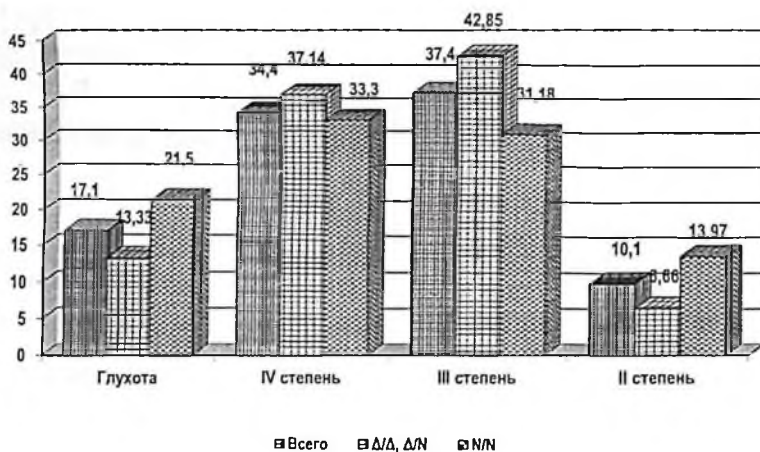


Рис. 3.9. Характеристика степени тяжести двусторонней несиндромальной нейросенсорной тугоухости в процентах от общего числа в группе

При этом стоит отметить, что в группе детей с делецией преобладали тяжелые степени нарушения слуха – III IV степень, а в группе без делеции среднетяжелый потери с фактически равномерным распределением по всем степеням (рис. 3.2.1.).

На рисунках 3.10 представлены примеры аудиограмм при нарушениях слуха тяжелой степени обусловленных двумя мутациями 35delG в гене Sx26 (GJB2). В скобках указан возраст первичной диагностики тугоухости.

Больная С. С., возраст на момент обследования 12 лет, возраст выявления 10 мес. Семейный анамнез отягощен: двусторонняя НСТ IV у старшего брата.

Анамнез заболевания отягощен тяжелым течением беременности и родов, сразу после рождения реанимация в течение 20 минут и симптомы нарушения ЦНС в постнатальном периоде. Генотип гомозигота по мутации 35 delG в гене Sx26, генотип 35 delG/35 delG (рис. 3.10).

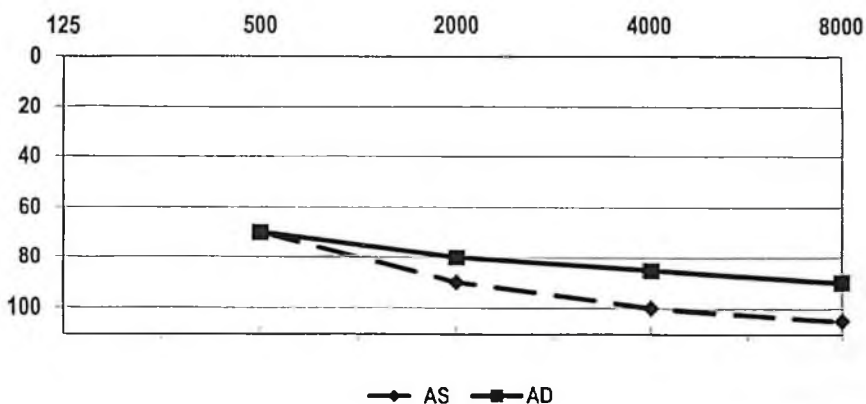


Рис. 3.10. Больная А. ИБ №10394/712 возраст 12 года (10 мес.).
 Диагноз: Двусторонняя несиндромальная НСТ IV степени (> 80 Дб) наследственной этиологии

Больной Л, возраст на момент обследования 10 лет, возраст выявления тугоухости 2 года. Семейный анамнез неотягощен. В анамнезе заболевания тяжелое течение беременности и родов, до года перинатальная энцефалопатия (рис. 3.11).

На рисунке 3.11 представлены примеры аудиограмм при нарушениях слуха среднетяжелой (III) и средней (II) степени, обусловленных двумя мутациями 35delG в гене Sx26 (GJB2). Мать

пробанда, гомозигота по делеции, возраст на момент обследования 44 года, нарушение слуха выявлено в 1,5 года. Семейный анамнез отягощен.

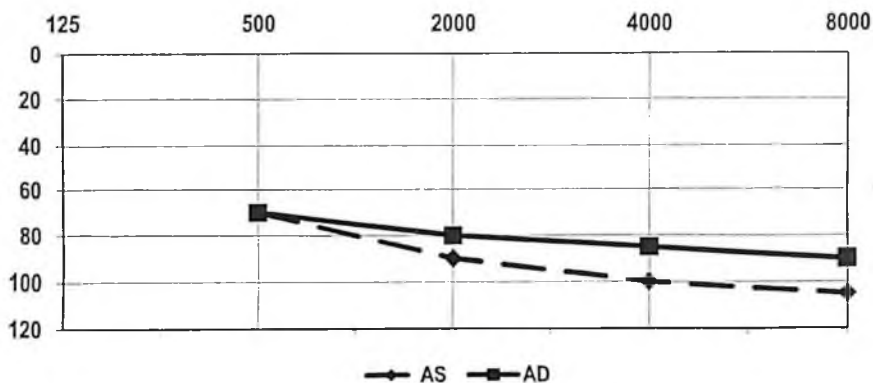


Рис. 3.11. Больной Л ИБ№ 3858/332, 10 лет (2 года).
Диагноз: Двусторонняя несиндромальная СНТ IV степени (> 80Дб) наследственной этиологии, гомозигота по мутации 35 delG в гене Cx26, генотип 35 delG/35 delG

Со слов консультируемой у ее сестры тугоухость с 1,5 лет после кори. Старший ребенок от первого брака слышащий, во втором браке трое тугоухих детей. Больной, возраст на момент обследования 14 лет, снижение слуха выявлено в 2 года. В 9 месяцев перенесла воспаление легких, которое лечили стрептомицином.

Родители страдали нарушением слуха с детства, но владели хорошей речью, поскольку с ними активно занимались их родители. Ухудшение слуха пробанд отмечала только на фоне простудных заболеваний.

Примеры аудиограмм при нарушениях слуха среднетяжелой (III) и средней (II) степени, обусловленных двумя мутациями 35delG в гене Cx26 (GJB2). В скобках указан возраст первичной диагностики тугоухости.

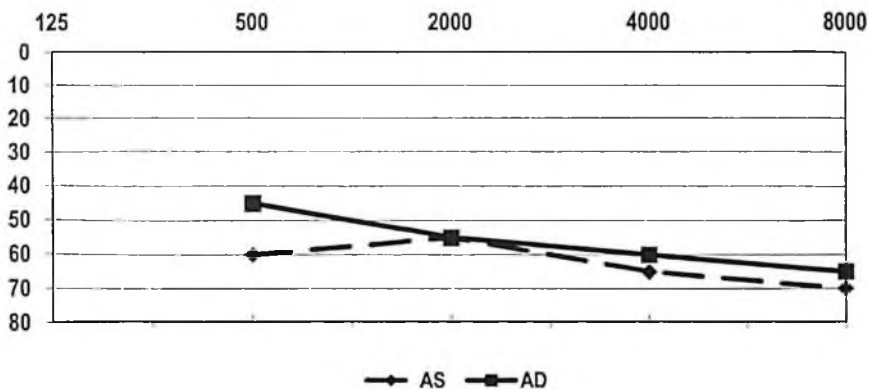


Рис. 3.12. Больной ИБ№3109/265 возраст 14 лет (2 года)
 Диагноз: несиндромальная НСТ II-III степени (>60Дб)
 наследственной этиологии, гомозигота по мутации 35 delG в
 гене Cx26, генотип 35 delG/35 delG

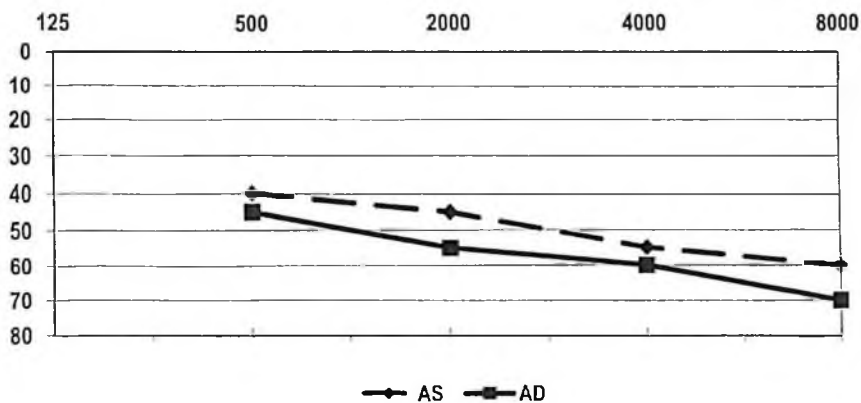


Рис. 3.13. Больной ИБ №348/24, возраст 13 лет (5 лет).
 Диагноз: Двусторонняя несиндромальная НСТ II степени (<
 60Дб) наследственной этиологии, гомозигота по мутации в гене
 Cx26, генотип 35 delG/35 delG

Больной Р. Г., возраст на момент обследования 3 года,
 снижение слуха выявлено в 1 год 6 мес, генотип 35delG/N. Вторая

мутация обнаружена при SSCP. Анамнез заболевания неотягощен. Родословная отягощена: нарушение слуха у сибса, у обоих родителей и у бабушки по маме. Отец ребенка гомозигота по мутации, страдает врожденной глухотой, которую заметили в 6 мес, причина была не ясна, в два года перенес пневмонию.

Больной И. В., возраст на момент обследования 16 лет, снижение слуха выявлено в 1 год, генотип 35delG/235delC. В 11 мес. перенесла пищевое отравление, лечили мономицином. Семейный анамнез не отягощен. Больной Б, возраст на момент обследования 12 лет, снижение слуха выявлено в 2 года в связи с задержкой развития речи, 35delG/310del4. По данным родословной у дяди по отцу односторонняя НСТ. В анамнезе ребенка тяжелые роды и заболевания первых лет жизни.

Сегодня тяжелые несиндромальные нарушения слуха являются прямым показанием для ДНК-диагностики мутаций в гене Sx26. Родителям детей с двусторонней НСТ I-II, II, и II-III степени тяжести оправдано предлагать ДНК-диагностику для исключения изменений в гене Sx26, поскольку в группе гомозигот и гетерозигот эти степени потери слуха имели место.

Здесь, необходимо отметить, что мы регистрировали и анализировали степень тугоухости на момент обследования. Судить о прогрессировании нарушений звуковосприятия в группе с измененным генотипом достаточно сложно и это задача сурдологов. Со слов родителей ухудшение слуха на фоне простудных заболеваний, вирусных инфекций, прививок, черепно-мозговых травм и других заболеваний имело место у 15% детей гомозигот по делеции и 25% гетерозиготных носителей. Для группы с измененным генотипом в целом это составило 17,8%. Не исключено, что прогрессирование могло быть обусловлено влиянием экзогенных факторов.

Первоначальный диагноз у ряда пациентов мог быть на уровне II-III степени, тогда как на момент нашего обследования мы регистрировали уже III-IV степень. При анализе первичной медицинской документации и данных аудиограмм, убедительных доказательств в пользу прогрессирования нарушений слуха нами не

выявлено. Только в двух случаях была четко зафиксирована разница между слуховыми тестами при первичном приеме и последующих осмотрах. В одном случае (№4201/343) у ребенка трех лет, гомозиготы по делеции, из семьи с двумя тугоухими родителями отмечено резкое ухудшение слуха по сравнению с первичным приемом в возрасте одного года. На приеме в 3 года по клиническим данным был поставлен диагноз двусторонняя НСТ II-III степени. В три года мать девочки сама обратилась к сурдологу: диагноз - двусторонняя НСТ III-IV степени. В другом случае имело место медленное ухудшение слуха на протяжении ряда лет у больной Д. гетерозиготы по делеции. Видимых причин для прогрессирования не было отмечено.

Особенно необычными по клиническому описанию и характеру поражения органа слуха при измененном генотипе были три наблюдения. Больной Ю. гомозигота по делеции имела выраженную асимметрию поражения органа слуха. НСТ II степени - на правое ухо, слева - практическая глухота. Сибс и оба родителя страдали практической глухотой. Причиной тугоухости у отца считался менингит.

Больная А. была гомозиготой по делеции и страдала НСТ IV степени. Старшая сестра пробанда имела двустороннюю НСТ I-II степени и посещала обычную школу. ДНК-диагностика показала, что она также является гомозиготой по делеции. Родители девочек имели нормальный слух. В третьем случае ребенок, являясь гомозиготой по делеции, на момент обследования в 12 лет, имела II-III степень тугоухости. Родители также имели нарушение слуха и оказались гомозиготами по делеции.

Согласно полученным данным почти у всех гомозигот по делеции тугоухость имела врожденный или доречевой характер. Возраст первичной диагностики нарушения слуха у большинства детей с мутацией 35delG в гене Sx26 приходился на возраст до двух лет включительно (87%).

Малое число гетерозиготных носителей делеции в проведенном исследовании не позволило изучить закономерности клиники нарушений слуха. Больше число наблюдений могло бы

выявить характерные особенности проявлений биаллельного и дигенного генотипов. Эти наблюдения важны в целях возможности прогнозировать тяжесть нарушений слуха, обусловленных патологическими изменениями в гене Sx26.

Таким образом, нарушения слуха, связанные с изменениями в гене Sx26 были обнаружены на временном отрезке от рождения до 6 лет. Молекулярная диагностика позволит выявлять таких детей раньше. Основными клиническими критериями изменений в Sx26 считаются тугоухость с рождения или в доречевой период (от рождения до 3 лет), рецессивный тип наследования и преобладание выраженной потери слуха вплоть до глухоты. Наличие в генотипе двух патогенных мутаций гена Sx26 является свидетельством имеющегося нарушения слуха, даже если первичные слуховые тесты говорят обратное. Ребенку с измененным генотипом необходимо обследование сурдолога и наблюдение. При консультировании семьи до проведения ДНК-диагностики важно знать, что можно ожидать от определенного типа семьи. Генетическая структура семей со слышащими родителями без учета семейного анамнеза отличалась наличием измененного генотипа в 45% случаев.

Таким образом, почти каждая вторая семейная пара имела риск по наследственной тугоухости, связанной с геном Sx26. В семьях с тугоухими родителями процент гомозиготных и гетерозиготных носителей делеции был значительно выше - 83,3%. Мутацию не обнаружили только в 16,7% семей II и III типов.

3.3. Анализ причин нейросенсорной тугоухости обследования больных после ДНК-диагностики по мутации 35delG

В соответствии с поставленной задачей изучения общей этиологической картины наследственной несиндромальной НСТ мы сравнили заключения о причине тугоухости, сделанные до проведения ДНК-диагностики и заключения по результатам тестирования.

После проведения ДНК-диагностики группа наследственной тугоухости среди несиндромальных форм составила 31,6% (n=37), а предположительно наследственные формы – 14,5% (рис. 3.3.1. и рис 3.3.2). Таким образом, наследственные формы тугоухости охватили 61% всех случаев врожденной и доречевой тугоухости/глухоты в обследованном контингенте. До ДНК-диагностики наследственные формы в этой группе были установлены лишь у 13,1%, хотя предположительно наследственный характер имели еще 16,6%, что в целом составило только 29,7%.

В результате скрининга гена Sx26 на мутацию 35delG почти половина случаев тугоухости неясной этиологии и более половины случаев, ранее считавшихся приобретенными, оказались в группе наследственных нарушений слуха. До тестирования подгруппа неясной этиологии составила 23,6%. После тестирования размеры данной подгруппы уменьшились до 13,4%. Согласно полученным данным до проведения ДНК-диагностики подгруппа тяжелых инфекций в среднем составляла 8,9%. После ДНК-диагностики размеры данной подгруппы уменьшились только на 1,3%. Хотя, потеря слуха в этом случае может быть связана также с длительными курсами ототоксических препаратов и предрасположенностью к их воздействию. После ДНК-диагностики подгруппа патологии беременности и родов уменьшилась с 16,5% до 12,8%.

Такие подгруппы как заболевания ребенка и группа другие куда вошли заболевания ребенка в первые годы жизни (отиты, грипп, детские инфекции) после ДНК-диагностики не изменились. Таким образом, группа наследственных причин увеличилась и стала занимать 31,6% случаев став доминирующим фактором развития НСТ в нашей выборке исследования.

В группе с измененным генотипом, заболевания первых лет жизни в 11,7% случае мы рассматривали в качестве причины тугоухости. В группе с негативным генотипом - только в 5,6% случаев. В группе с мутацией 35delG тяжелые инфекции в анамнезе отмечены только в 2,5%.

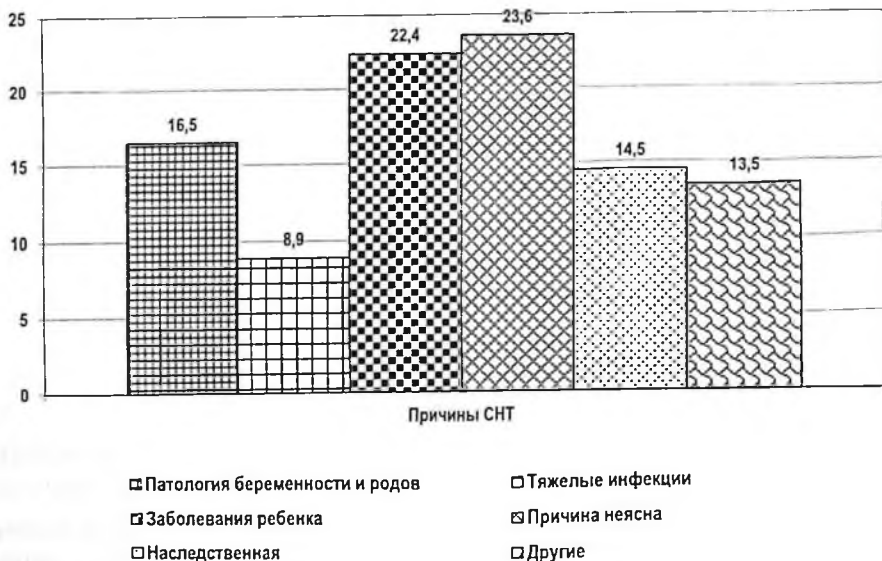


Рис. 3.14. Спектр факторов, считавшихся причиной тугоухости, до проведения ДНК-диагностики в группе детей с измененным генотипом (генотипы А/А и А/Н)

При негативном генотипе размер данной подгруппы составил 15,8%. Тяжелое течение инфекций имело место только в 0,5%. Без проведения генетического анализа тугоухость в этих случаях могла считаться приобретенной, хотя в действительности обусловлена наследственными факторами. Поэтому наличие в анамнезе постнатальной перенесенной инфекции, предшествующей нарушению слуха не должно препятствовать проведению молекулярной диагностики.

Анализ анамнестических данных у гомозигот и гетерозигот по делеции показал, что в 23,9% случаев не было видимых причин для нарушения слуха. Среди детей, не имеющих данной мутации, этиология тугоухости была неясна в 28,2%. В редких случаях имели место несколько возможных причин, что в результате также создавало картину неясной этиологии. Без проведения генетического анализа нарушение слуха в этих случаях также могли считать приобретенным.

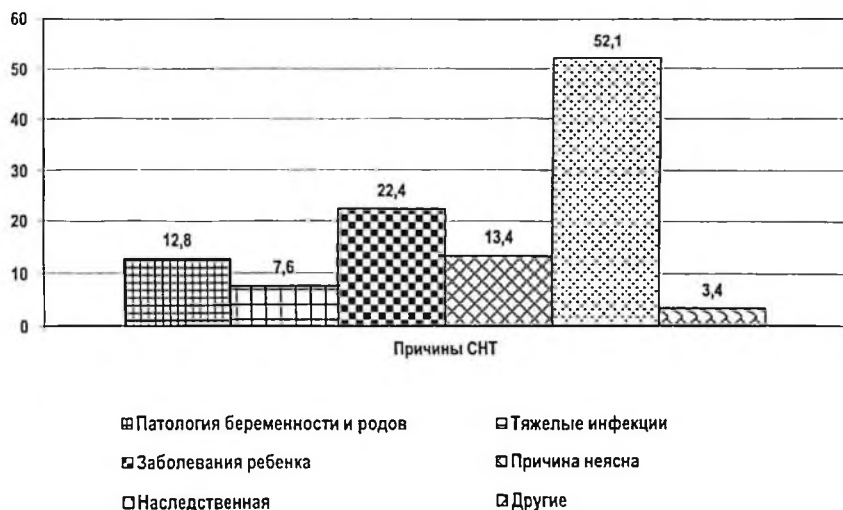


Рис. 3.15. Этиологическая структура несиндромальной НСТ и глухоты по результатам ДНК-диагностики (n=117)

Почти 20% гомозигот по мутации 35delG в гене Sx26 имели в анамнезе патологию беременности и родов (врожденные инфекции, гемолитическую болезнь новорожденных, тяжелое течение, родовые травмы, асфиксию, недоношенность и другие), заболевания первых лет жизни с тяжелым течением, детские инфекции (грипп, скарлатина, ветряная оспа), пневмонию, применение ототоксических антибиотиков не более одного курса.

Благодаря ДНК-диагностике мы подтвердили, что в действительности тугоухость в этих случаях имела наследственный характер. Изучение группы несиндромальных нарушений слуха, обусловленных делецией 35delG в гене Sx26, показало, что непродолжительные курсы антибиотиков, грипп, другие инфекционные заболевания ребенка, недоношенность до 2500 кг, тяжелые роды, гемолитическая болезнь новорожденных, могли маскировать наличие наследственной тугоухости, связанной с исследованной мутацией гена Sx26.

Таким образом, наследственные формы тугоухости, связанные с изменениями в гене Sx26, без молекулярной диагностики в 35% случаев специалисты могли считать приобретенными (патология беременности и родов, тяжелые инфекции, заболевания ребенка первые годы жизни), а в 23,9% этиология была неясна. Отмечен тот факт, что в группе с негативным генотипом по мутации (WT/WT) в подгруппе тяжелых инфекций в 4-х случаях из 28 имел местоотягощенный семейный анамнез. Во всех случаях был назван возрастной или травматический характер возникновения тугоухости у родственника.

В целом при отягощенной родословной указание на тугоухость родственника по старости имели 8 семей. В одной из них у пробанда выявлена мутация 35delG в гомозиготном состоянии. Оба пробанда также оказались гомозиготами по данной мутации. Из двух случаев, имевших ссылку на профессиональную тугоухость родственника, в одном случае у пробанда обнаружена мутация в гене Sx26 в гомозиготном состоянии. Две семьи, указывали на нарушение слуха у родственника после травмы, совпадений с измененным генотипом не обнаружено. В обследованной нами группе ссылки на применение антибиотиков родители сделали в 35% случаев несиндромальных нарушений слуха. Большинство случаев было подтверждено выписками из стационаров и записью в медицинской карте ребенка.

Учитывая, что антибиотики не назначаются без серьезных показаний, мы не рассматривали этот фактор риска отдельно от основной причины его применения. Результаты нашего молекулярно-генетического исследования подтвердили правильность такого подхода. Показано, что за ссылками на кратковременные курсы ототоксических антибиотиков при гриппе, детских инфекциях во многих случаях скрывались эффекты патологического генотипа гена Sx26. Это почти половина случаев тугоухости/глухоты (47,3%), которые связывали с применением антибиотиков и других средств (табл. 3.12).

Таблица 3.12

Этиологическая структура несиндромальной тугоухости в случаях применения ототоксических средств в обследованной группе (%)

Группа	до ДНК-диагностики	A/Аи A/N	N/N
Патология беременности и родов	27,5	12,2	15,3
Тяжелые инфекции	19,1	3,8	15,3
Заболевания ребенка	14,5	10,7	3,8
Другие	0,8	-	0,8
Наследственность	30	1,5	1,5
Сочетание наследственных факторов с приобретенными	30	30	-
Предположительно наследственность	12,2	3	9,2
Причина неясна	19,8	13,0	6,9
Всего (%)	100	47,3	52,7

Эти случаи на самом деле были наследственными и обусловлены изменениями в гене Cx26 (генотипы 35delG/35delG и WT/35delG). Вот почему ссылки на кратковременные курсы ототоксических антибиотиков, грипп, детские инфекции не должны исключать генетическое обследование. Результаты нашего молекулярно-генетического исследования подтвердили правильность такого подхода.

3.4. Клиническая характеристика больных неросенсорной тугоухостью по семейному анамнезу после медико-генетического исследования

Больных по семейному анамнезу подраздели на две подгруппы: с отягощенным (первый контингент) и неотягощенным (второй контингент) семейным анамнезом.

Семьи с отягощенными семейными анамнезами

Изучение семейного анамнеза и анамнеза заболевания при несиндромальных формах приобретает особое значение, поскольку

нет дополнительных клинических признаков, позволяющих поставить диагноз и определить причину тугоухости.

В соответствии с разработанной схемой изучены данные семейного анамнеза и анамнеза заболевания в исследуемых выборках. Среди детей с 2006 по 2008 гг. рождения родственники с нарушением слуха встретились в 29% случаев. В этой группе было отмечено значительное преобладание глухоты 30% и тяжелой потери слуха (14,4%). Среднетяжелые потери слуха, НСТ III и III-IV степени, составили 11,7% и 7,2% соответственно. Средняя степень тяжести, НСТ II и II-III степени, встретились в 2,8% случаев каждая. Двусторонняя НСТ I-II степени отмечены в 7,2%. А односторонняя НСТ глухота отмечена в 6,7%.

В контингенте прошедшем ДНК-диагностику отягощенные родословные составили 43%. В этой группе имели место только двусторонние нарушения слуха, которые в основном были представлены НСТ IV степени (36%), НСТ III-IV (19,9%) и НСТ III степени (18,6%). Глухота составила только 11,8%. Средние потери слуха, НСТ II-III степени, отмечалась в 11,2%.

Только sibсы имели нарушение слуха в 11,9% случаев в первом контингенте и в 14,1% во втором. Стоит отметить, что исследование слуховой функции детей из данной группы проводилось неоднократно, при этом в динамике отмечено стабильность слуховой функции без выраженного ухудшения восприятия звуков. Доля семей, которые имеют других родственников (2-3 степени родства) с тугоухостью, преобладала во втором контингенте и составила 35,2%. В первом контингенте такие семьи выявлены в 21% случаев. Косвенно это может указывать на недостаточность семейного анамнеза собираемого сурдологом, который не располагает временем для тщательного опроса членов семьи. Доля семей, имеющих в семейном анамнезе sibсов и других родственников с тугоухостью, была довольно мала и оба контингента практически не отличались по этому показателю. В первом выявлено только 4,2% таких семей, во втором - 4,7%. Таким образом, оба контингента детей почти не отличались по доле

семей, имеющих только сибсов с тугоухостью и сибсов с другими родственниками.

Семьи с неотягощенным семейным анамнезом

Клиническая характеристика тугоухости по степени тяжести и возрасту начала проанализированы среди детей 2006-2008 гг. рождения. Общая частота двусторонней НСТ составила 98,6%. Тяжелая двусторонняя НСТ IV степени установлена в 32,4%, НСТ III-IV степени -24,9%, глухота -11,7% случаев. Среднетяжелые потери слуха составили 18,8%. Частота случаев глухоты при разных типах семейного анамнеза оказалась практически одинакова. При отягощенном анамнезе незначительно преобладала НСТ IV степени, а при неотягощенном - НСТ III-IV. При этом в группе с неотягощенным семейным анамнезом у детей старше 7 лет при нескольких обследованиях отмечено ухудшение слуховой функции со снижением уровня восприятия, в некоторых случаях с снижением степени потери слуха, несмотря на проводимые профилактические мероприятия, что дает нам возможность предполагать приобретенный характер нейросенсорной тугоухости.

Таким образом, проведенное комплексное многофункциональное исследование позволяет заключить, что способы восприятия, формирующиеся через овладение словесными обобщениями, у слабослышащих детей с нейросенсорной тугоухостью запаздывают в развитии, что может быть следствием воздействия неблагоприятных экзогенных и эндогенных факторов в пре- и постнатальном онтогенезе. Результаты сравнительного анализа развития детей свидетельствуют об относительной компенсации функциональных расстройств при врожденной нейросенсорной тугоухости в процессе роста.

ГЛАВА IV. РЕЗУЛЬТАТЫ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ННСТ

4.1. Результаты клинико-генетического консультирования больных при несиндромальных нейросенсорных формах тугоухости

Проведено клинико-генетическое исследование 117 пробандов больных НСТ. В качестве пробанда взят ребенок узбекской популяции в возрасте от 1 до 18 лет, проживающий на территории Самаркандской области. Рассмотрен семейный материал, при котором принимали в расчет разнородность инбредных браков. В итоге проведенных исследований выявлено, что в целом от инбредных браков родилось 31 (26,5%) пробандов.

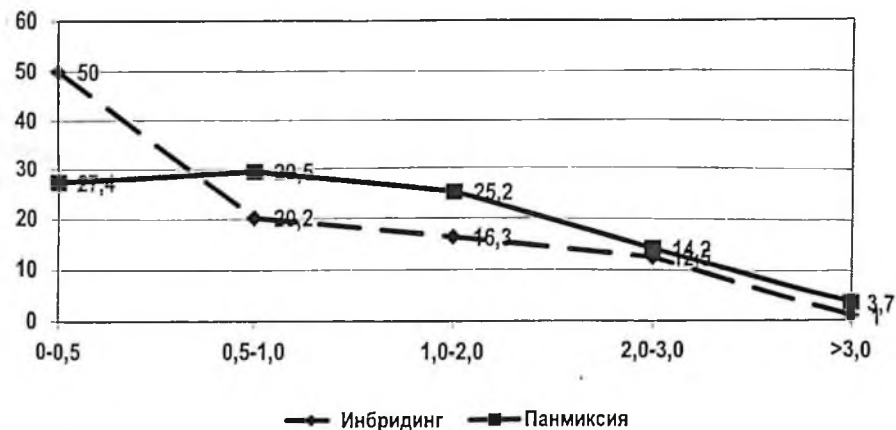


Рис. 4.1. Возраст выявления заболевания у детей с тяжелыми формами нарушений слуха из семей с инбредным и панмиксным браком

При детальном изучении возраста выявления НСТ более ранняя диагностика была в группе детей от инбредных браков: у более 70% детей НСТ была выявлена уже на первом году жизни, в то время как в панмиксных семьях НСТ до года была выявлена лишь у половины детей. В группе в возрасте старше 3-х лет выявляемость нейросенсорной тугоухости в семьях с инбредным и

панмиксным браком был почти одинаков (рисунок 4.1). Такая соразмерность связана, по-видимому, с тем, что большинство семей с инбредным браком были информированы о возможном развитии патологии.

Во время анализа степени тяжести поражения слуха в панмиксных и инбредных семьях было выявлено, что в инбредных семьях процент детей с 3, 4 степенью НСТ и глухотой был одинаков. В семьях же с панмиксией больший процент детей был с 3-4 степенью тугоухости и низкий процент с полной глухотой (рис. 4.2).

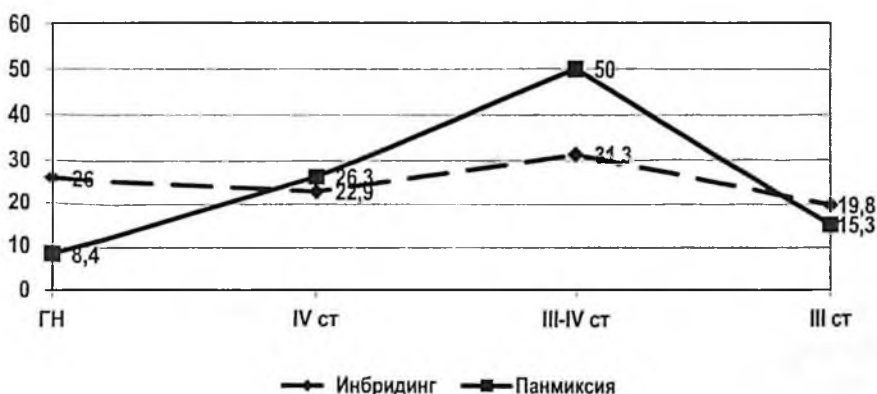


Рис. 4.2. Степень тяжести нарушений слуха у детей из семей с инбредным и панмиксным браком

Во время исследования семейного анамнеза был учтен следующий момент: наличие в семье родственников с патологией слуха. В ходе чего были отобраны два типа семей: панмиксная семья и инбридинговая семья. В семьях с инбридингом родственников с патологией слуха не выявлено. Подобным образом, на отягощенный и неотягощенный наследственный анамнезы разделена только группа с панмиксной семьёй.

Семьи I типа имели две подгруппы. Семьи IA типа - это панмиксные семьи с отягощенным семейным анамнезом. В эту группу включены семьи, в которых имелись родственники с нарушениями слуха, случай снижения слуха у ребенка являлся

неединственным в семье. Семьи 1Б типа – это так же панмиксные семьи, но только случай снижения слуха у ребенка был единственным. В семейном анамнезе нет других случаев тугоухости среди родственников. Во время изучения родителей снижение слуха также не выявлено.

Таблица 4.1

Характеристика типов семей

Типы семей		Характеристика семьи	Типы семьи по анамнезу
I тип	А	Панмиксная семья с отягощенным анамнезом, имеются родственники с нарушением слуха, n=26	Семьи с отягощенным анамнезом
	Б	Панмиксная семья с неотягощенным анамнезом, случай снижения слуха у ребенка единственный в семье, n= 60	Семьи с неотягощенным анамнезом
II тип		Семья с инбридингом, n=31	

Семьи II типа – это инбридинговая семья, где случай снижения слуха у ребенка являлся единственным в семье, не имели родственников с нарушением слуха, обследование родителей патологии слуха так же не выявлено. Отсюда следует, что группа с неотягощенным семейным анамнезом включала различные типы семей: 1Б, II типы. Группа с отягощенным семейным анамнезом включала только группу 1А (табл. 4.1).

Неотягощенный семейный анамнез (1Б и II типы семей) имели 91 (77,8%) ребенок. Отягощенный семейный анамнез (1А тип семьи) составил 26 (22,2%) детей. Родители с нарушением слуха имели место в 8 (30,7%) случаях, в 1А типе семей. Семьи 1А типа составили 22,2%, семьи 1Б типа – 51,3%, семьи II типа 26,6% детей.

В соответствии с результатами обследования состояние слуха у родителей в 1А типе семей часто оставалось на одном уровне на протяжении длительного времени. Эти наблюдения оставляют под

вопросом возможность прогрессирования в силу генетических причин.

Данные образчики показали, что при наличии врожденной и стойкой детской тугоухости у пробанда и более поздней тугоухости у одного из родителей, как и в спорадических случаях, мы часто имеем дело именно с аутосомно-рецессивной тугоухостью. Родословные таких семей принято называть псевдоминантными.

Во всяком случае ключевое слово в данных случаях было за ДНК-диаг-ностикой. Аутосомно-доминантный тип наследования в группе с мутацией 35delG в гене Sx26 не выявлен. В группе с негативным генотипом отмечено 10 таких семей или 5,7%. Есть возможность, что часть этих семей характеризуются также наследованием других мутаций в гене Sx26 или в других генах. Аутосомно-доминантный тип наследования утвердительно можно установить лишь при определенной клинической картине заболевания.

Например, наиболее характерными считается позднее начало и прогрессирующе течение. Хотя для ряда доминантных мутаций некоторых генов описано раннее начало нарушений слуха. Подобная клиника имела место только в 5 семьях. Фактор нарушения слуха в семьях IA типа, в которых мутации в гене Sx26 не были обнаружены, может быть связана с другими генами, но может иметь и приобретенный характер. Не исключена такая ситуация со слышащими детьми у глухих родителей. Эти результаты дополнительно подтверждают гетерогенность заболевания, а семьи требуют внимательного консультирования и дальнейшего поиска изменений других генов. Учитывая вышеуказанное, в настоящее время возможно оказание необходимой консультативной помощи всем семьям при планировании потомства, в том числе еще до рождения первого ребенка. Несомненно, это связано с разработкой целого комплекса мер по эффективной профилактике наследственных нарушений слуха среди населения.

4.2. Результаты молекулярно-генетического исследования детей при несиндромальных нейросенсорных формах тугоухости

В ходе первого этапа молекулярно-генетического тестирования была выделена ДНК из периферической крови слабослышащих детей. На втором этапе были генотипированы следующие мутации: 35delG, 235delC, 3202+1G>A (IVS1+1G>A), 313_326del14 и 358_360delGAG (p.Glu120del). Генетическое тестирование на мутацию 35delG гена Cx26 проведено среди 117 детей с двусторонней несиндромальной НСТ тяжелой степени.

Дополнительно проведено молекулярно – генетического тестирование 26 взрослых здоровых родителей детей с несиндромальной НСТ и группа контроля 84 практически здоровых детей соответствующей группе больных по возрасту и национальной принадлежности, не имеющих родственников с патологией слуха.

Исследование проводилось в научной лаборатории генетики института Биохимии АНРУз г. Ташкента, под руководством д.б.н. профессора Р. С. Мухамедова. Важным критерием вызова семьи являлась двусторонняя НСТ тяжелой степени и неясной этиологии. Скрининг проводился путем анкетирования родителей, которое одновременно являлось информированным согласием на обследование ребенка. Каждый родитель должен был поставить подпись в анкете, согласившись на осмотр ребенка и взятие крови из вены. Консультация семей проводилась по результатам исследований.

Считалось получение трех групп пациентов, отличающихся по генотипам. Первая группа - пациенты с двумя мутациями 35delG (гомозиготы), обозначаемые как А/А. Вторая группа дети с одной мутацией (гетерозиготы), обозначаемые как А/Н. Обе группы были объединены в группу с «измененным генотипом». Третья группа - пациенты, у которых данная мутация не была обнаружена (дикий генотип). Обозначение последней группы было N/N (сокращение от «Negative/Negative»). Группы детей с разными генотипами анализировались по установленной схеме.

В группе контроля мутация 35delG обнаружена только в гетерозиготном состоянии у 1 взрослого (1,2% случаев) что соответствует распространенности гена в популяции населения ряда Азиатских стран.

По результатам ДНК-диагностики гена Sx26 детей с несиндромальной НСТ на мутацию 35delG нами получены три группы пациентов (рис. 4.3):

1. Группа гомозигот по мутации 35delG (генотип Δ/Δ): 20 (17,1%) пациентов.

2. Группа гетерозигот по мутации 35delG (генотип Δ/N): 17 (14,5%) пациент.

3. Группа пациентов с негативным генотипом по делеции (генотип WT/WT), включала 80 (68,4%) пациентов.

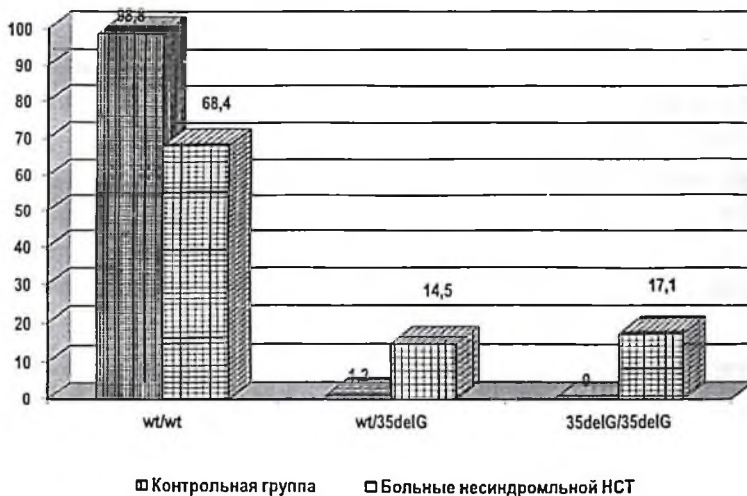


Рис. 4.3. Распределение генотипов по мутации 35delG в контрольной группе и у больных с несиндромальной НСТ

Данные генотипирования на наличие мутации 35delG у 117 детей с несиндромальными формами НСТ показали, что 20 (17,1%) пациентов являю собой гомозиготы по этой мутации, 17 (14,5%) ребенка имеют только одну мутантную аллель (гетерозиготы), и у 80 (68,4%) детей мажорной мутации 35delG не обнаружено. Таким

образом, было выявлено, что 35delG точечная делеция является наиболее частой причиной НСТ (31,6% всех случаев) тугоухости у обследованных пациентов, что соответствует данным в других европейских странах (Маркова Т. Г., Поляков А. В., 2006; Antoniadis T. et al., 1999; Sterna O. N., Prooina I., 2009). Эти результаты увязываются с данными, полученными для аутосомно-рецессивной несиндромальной тугоухости в популяциях Средиземноморья, Европы и США [105]. Нарушения в гене Cx26 составили от 34% до 50% аутосомно-рецессивных случаев тугоухости. В этих работах, особенно на начальном этапе, проводилось исследование только наследственных форм. В нашем исследовании принимали участие все дети с тяжелыми формами врожденной и доречевой стойкой тугоухости независимо от причины нарушения слуха.

Группа с установленной наследственной формой тугоухости включала пациентов с измененным генотипом, гомо- и гетерозигот по делеции 35delG в Cx26 (генотипы - 35delG/35delG и WT/35delG). Оставшиеся пациенты вошли в - группу с негативным генотипом по делеции, или WT/WT, в которой мутация 35delG в Cx26 не обнаружена. В дальнейшем - группы анализировались нами по общей схеме.

Таблица 4.2

Распределение мутации 35delG в гене Cx26 в зависимости от типов семей

Группа	Отягощенный анамнез, IA тип		Неотягощенный анамнез				Всего	
			IБ тип		II тип			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
35delG /35delG	8	30,8	3	5,0	6	19,4	17	14,5
WT/35delG	4	15,4	6	10,0	10	32,3	20	17,1
WT/WT	14	53,8	51	85,0	15	48,4	80	68,4
Всего	26	22,2	60	51,3	31	26,5	117	100,0

Генетическая структура семей в зависимости от мутации 35delG, представлена в таблице 4.2 и отличается преобладанием

делеции 35delG в семьях с отягощенным анамнезом из панмиксных семей – 46,1% (n=12) и в инбридинговой среде, невзирая на отсутствие отягощенного анамнеза – 51,6% (n=16).

При этом делеция 35delG в семьях с неотягощенным анамнезом из панмиксной среды составила всего 15% (n=9). Распределение по наличию делеции в одной или двух аллелях показало преобладание гомозигот в семьях с отягощенным анамнезом – 31%, что связано, скорее, с наследованием, а в семьях с неотягощенным анамнезом делеция была представлена в большинстве в гетерозиготном состоянии в сравнении с группой гомозигот – 10% против 5% в панмиксной среде и 32,3% против 19,3% в инбридинговой среде.

Мутация 35delG не обнаружена только у 14 (53,0%) детей из семей с отягощенным анамнезом и у 15 детей (48,4%) инбридинговых семей и у 51 (85,0%) ребенка семей с неотягощенным анамнезом из панмиксной среды, что в целом составило 68,4%. Обратим внимание, что отсутствие данной мутации не исключает возможность наследственной тугоухости, поскольку в этих семьях поиск других мутаций в Sx26 и других генах не проводился. В обследованной нами группе детей с несиндромальной тугоухостью неясная этиология фиксировалась у 62 человек. Эти данные превосходят цифры известные по источникам литературы. Для нарушений слуха неясной этиологии зарубежные авторы отмечали нарушения в гене Sx26 в 10-37% случаев [105].

Высокий процент мутации 35delG, выявленный у детей с неотягощенным семейным анамнезом, представляется дополнительным аргументом в пользу необходимости ДНК-диагностики у детей, имеющих слышащих родителей.

Больше всего высокий процент встречаемости данной мутации был отмечен при отягощенном семейном анамнезе – 12 (46,1%) больных (табл. 4.2), при этом гомозиготы доминируют над группой гетерозигот почти в 2 раза (31% против 15%). Такое разделение скорее связано с тем, что наличие отягощенного анамнеза загадывает наличие измененного генотипа у родителей, вследствие чего ребенок наследует от обоих родителей рецессивный признак получая пару патологического аллеля.

Таблица 4.3

**Распределение мутации 35delG в гене Cx26 в группе пробандов
с неотягощенным семейным анамнезом**

Группа	Неотягощенный анамнез				Всего	
	IБ тип панмиксная семья		II типа инбридинговая семья			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
35delG /35delG	3	5,0	6	19,4	9	9,9
WT/35delG	6	10,0	10	32,3	16	17,6
WT/WT	51	85,0	15	48,4	66	72,5
Всего	60	65,9	31	34,1	91	100,0

При неотягощенном семейном анамнезе частота мутации составила только 25 (27,4%) больных (табл. 4.3). Только гомозиготы по делеции составили 9 (9,9%) больных а гетерозиготы – 16 (17,6%) больных. В кругу детей в группе с инбридингом мутация 35delG в гомозиготном состоянии была обнаружена у 6 (19,4%) детей, а в гетерозиготном состоянии у 10 (32,3%) детей. Из чего следует, что встречаемость мутации у пациентов в этой подгруппе составила 16 (51,6%) детей.

Эти данные указывают на то, что в изученной выборке семей с неотягощенным анамнезом инбридинг является ведущим фактором мутации 35delG, является основным показателем увеличения делеции в группе с неотягощенным анамнезом, что представляется показанием проведения генетического анализа в семьях с инбридингом.

До проведения молекулярного анализа тугоухость в этих семьях рассматривалась как аутомно-доминантная. Но, предполагая встречу в родительской паре лица со снижением слуха, гомозиготы по делеции, и здорового лица, гетерозиготного носителя такой же мутации, риск наследования нарушения слуха равен 50%, что соответствует риску при доминантном типе наследования. Число гомозиготных и гетерозиготных носителей мутации, принимая во внимание малочисленность подгруппы, было практически одинаковым. Мутация 35delG не обнаружена у детей из семей IA типа и с двумя глухими родителями. Наряду с этим, отсутствие данной мутации не исключает возможность

наследственной тугоухости, поскольку в этих семьях поиск других мутаций в Cx26 и других генах не проводился. Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют, что неизменным условием ранней диагностики НСТ у детей является учет глухоты у ближайших родственников (родителей, братьев и сестер) и выявление семей с близкородственными браками.

Таблица 4.4

Распределение мутации 35delG в гене Cx26 в группе пробандов с инбридингом

Группа	Семьи II типа	
	Инбридинговая семья	
	абс.	%
35delG /35delG	6	19,4
WT/35delG	10	32,3
WT/WT	15	48,4
Всего	31	100,0

Помимо 35delG, у 25 больных НСТ проведено также ПЦР исследование 4 наиболее частых мутаций в гене GJB2, кодирующем синтез белка коннексин 26: 235delC, 3202+1G>A (IVS1+1G>A), 313_326del14 и 358 360delGAG (p.Glu120del). В результате анализа у одного больного обнаружена мутация 3202+1G>A (IVS1+1G>A) в гомозиготном состоянии.

Пенетрантность гена показывает, какой процент носителей гена обнаруживает соответствующий фенотип. Возможно, пенетрантность зависит либо от остальных генов, либо от среды, либо от того и другого. Из чего следует, она предоставляет собой не константовое свойства гена, а функцию остальных генов и различий в условиях среды. Стало быть следующим этапом нашего исследования являлось установление типа наследования ННСТ в двух альтернативных популяциях. Анализ семей в панмиксной выборке показал довольно низкий результат.

4.3. Результаты статистического анализа генетической ассоциации генотипов по мутации 35 delG гена коннексина-26 с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов мутации 35 delG гена Cx26 выявил статистически значимую ($P < 0,001$ по критерию χ^2 Пирсона по мультипликативной, общей и аддитивной модели наследования и $p = 0,004$ по критерию χ^2 Пирсона по рецессивной модели наследования) ассоциацию аллеля 35delG, а также гетерозиготного wt/35delG и гомозиготного 35delG/35delG генотипа с несиндромальной НСТ.

Мультипликативная модель наследования (тест хи-квадрат, df = 1)

Аллели	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
	n = 117	n = 84			знач.	95% CI
wt	0.667	0.994	66.38	p < 0.001	0.01	0.00- 0.09
35delG	0.333	0.006			83.50	11.48- 607.53

Общая модель наследования (тест хи-квадрат, df = 2)

Генотипы	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
	n = 117	n = 84			знач.	95% CI
wt/wt	0.470	0.988	60.99	p < 0.001	0.01	0.00 - 0.08
wt/35delG	0.393	0.012			53.77	7.23-399.88
35delG/35delG	0.137	0.000			27.47	1.62-464.75

Аддитивная модель наследования

(тест Кохрана-Армитаджа для линейных трендов, $\chi^2 = [0, 1, 2], df = 1$)

Генотипы	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
	n = 117	n = 84			знач.	95% CI
wt/wt	0.470	0.988	52.70	p < 0.001	0.01	0.00- 0.08
wt/35delG	0.393	0.012			53.77	7.23-399.88
35delG/35delG	0.137	0.000			27.47	1.62- 464.75

Рецессивная модель наследования (тест хи-квадрат, df = 1)

Генотипы	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
	n = 117	n = 84			знач.	95% CI
wt/wt+	0.863	1.000	12.48	0.0004	0.04	0.00- 0.62
wt/35delG		0.137			0.000	27.47

Результаты статистического анализа генетической ассоциации генотипов по мутации 3202+1G>A (IVS1+1G>A) гена Sx26 с несиндромальной нейросенсорной тугоухости

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов по мутации 3202+1G>A гена коннексина-26 не выявил статистически значимых различий между группой больных с несиндромальной НСТ и контрольной группой (P=0,15 по критерию χ^2 Пирсона по мультипликативной, P=0,6 по общей модели наследования, P=0,31 по аддитивной и рецессивной модели наследования). Данное явление может быть связано с малой выборкой (n=25) больных генотипированных на данную мутацию.

Мультипликативная модель наследования (тест хи-квадрат, df=1)

Аллели	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
					знач	95% CI
	n=25	n=25	2,04	0,15		
wt3202+1G>A	0,60	1,000			0,19	0,01-4,10
	0,040	0,000			5,21	0,24-111,24

Общая модель наследования (тест хи-квадрат, df=2)

Генотипы	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
	n=25	n=25			знач.	95% CI
wt/wt	0.960	1.000	1.02	0.6	0.32	0.01 – 8.25
wt/3202+1G>A	0.000	0.000			1.00	0.02 – 52.37
3202+1G>A /3202+1G>A	0.040	0.000			3.12	0.12 – 80.40

Аддитивная модель наследования (тест Кохрана-Армитаджа для линейных трендов, $\chi^2 = [0,1,2]$, $df = 1$)

Генотипы	Случаи	Контроли	χ^2	p	OR	
	n=25	n=25			знач.	95% CI
wt/wt	0.960	1.000	1.02	0.31	0.32	0.01 - 8.25
wt/3202+1G>A	0.000	0.000			1.00	0.02-52.37
3202+1G>A /3202+1G>A	0.040	0.000			3.12	0.12- 80.40

Рецессивная модель наследования (тест хи-квадрат, $df = 1$)

Генотипы	Случаи	Контроли	χ^2	P	OR	
	n = 25	n = 25			знач.	95% CI
wt/wt+	0.960	1.000	1.02	0.31	0.32	0.01 - 8.25
wt/3202+1G>A						
3202+1G>A /3202+1G>A	0.040	0.000			3.12	0.12- 80.40

В связи с чем, получается вывод, что несиндромальная нейросенсорная тугоухость является генетически детерминированным заболеванием с мультифакториальной наследственной передачей, а эффект наличия инбридинга не повышает частоту рецессивных генов, а лишь способствует более частой их гомозиготизации.

Таким образом, проведенное нами исследование позволило выявить определенное влияние инбридинга на детерминацию ННСТ, на формирование наследственной тугоухости у ближайших родственников в двух популяциях (панмиксия, имбридинг). Поэтому, на наш взгляд, необходимо учитывать клинические и аудиолоргические особенности которые характерны как панмиксной, так и для инбредной ННСТ у детей, которые вносят определенные коррективы в ведении таких больных.

Глава V. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕАБИЛИТАЦИИ И ПРОФИЛАКТИКА НЕСИНДРОМАЛЬНОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ

5.1. Клинические аспекты реабилитационной и профилактической тактики несиндромальной нейросенсорной тугоухости

При хроническом нарушении слуховой функции целью проводимого лечения является стабилизация сниженной слуховой функции. Кроме того, на первое место при хронической нейросенсорной тугоухости выходит социальная реабилитация больных. Очень важен индивидуальный подход в лечении нейросенсорной тугоухости (учитывается состояние психики, возраст и наличие сопутствующих заболеваний и т.д.).

Лечение нейросенсорной тугоухости на современном этапе складывается из нескольких составляющих, которые мы условно подразделили на медикаментозные и немедикаментозные мероприятия. Еще с давних времен основной составляющей лечения являлась медикаментозная терапия, несмотря на невыраженный удовлетворительный эффект. В последние годы с развитием новых цифровых технологий и их внедрением в медицину для врачей стали доступны другие немедикаментозные методы лечения и стало возможным говорить о реабилитации слуха и речи касательно больных с тяжелой степенью тугоухости и глухоты.

Подход к выбору лечебной тактики должен основываться на анализе клинических, лабораторных и инструментальных данных, полученных до начала лечения и в его процессе, а также после завершения курса лечебных мероприятий. План лечения индивидуален для каждого больного, определяется с учетом этиологии, патогенеза и длительности заболевания, наличия сопутствующей патологии, интоксикации и аллергии у больного. Однако существуют общие правила, которые должны всегда соблюдаться неукоснительно:

Реабилитация несиндромальной нейросенсорной тугоухости

Немедикаментозное лечение должно быть направлено на реабилитацию слуховой функции. Реабилитация слуховой функции при нейросенсорной тугоухости направлена на восстановление социальной активности и качества жизни больного и заключается в проведении слухопротезирования или кохлеарной имплантации и обязательных сурдопедагогических мероприятиях.

При потере слуха более 40 дБ речевое общение, как правило, затрудняется и человек нуждается в коррекции слуха. Иначе говоря, при снижении слуха на гласных речевых частотах (500-4000 Гц) на 40 дБ и более показан слуховой аппарат. В зарубежной практике пациенту рекомендуется слухопротезирование, если потеря слуха с обеих сторон составляет 30 дБ или более. Готовность к ношению слухового аппарата во многом определяется социальной активностью пациента и возрастает вместе со степенью потери слуха. У детей, особенно первых лет жизни, показания к слухопротезированию значительно расширились. Доказано, что потеря слуха более 25 дБ в диапазоне 1000-4000 Гц приводит к нарушению формирования речи ребёнка и препятствует его социализации.

При проведении слухопротезирования следует учитывать факт, что нейросенсорная тугоухость представляет собой комплексное нарушение социальной адаптации. Кроме того, что происходит ухудшение порогов слышимости в диапазоне частот, важных для понимания речи, наблюдается нарушение итогового слуха. При нейросенсорной тугоухости в первую очередь теряется зона восприятия высокочастотных компонентов речи, важных для понимания согласных. Гласные при этом страдают меньше. Основная акустическая энергия речи располагается именно в зоне гласных, то есть в низкочастотном диапазоне. Этим объясняется факт, что при потере высокочастотного слуха пациент не воспринимает речь более тихой, Из-за ограниченного восприятия согласных она становится для него "всего лишь" нечеткой, труднее понимаемой.

Учитывая, что согласных больше, чем гласных, согласные гораздо важнее для понимания смысла речи, чем гласные. Ощущение снижения громкости речи появляется лишь при ухудшении слуха и в зоне низких частот. Учитывая, что при нейросенсорной тугоухости в значительной степени теряется восприятие высокочастотных звуков при сохранности низкочастотных, требуется наибольшее усиление в высокочастотной области, это требует наличия нескольких каналов настройки усиления в слуховом аппарате для создания адекватного звука.

Близость расположения микрофона и телефона в слуховом аппарате из-за их миниатюрного размера может приводить к появлению акустической обратной связи, которая возникает тогда, когда усиленный аппаратом звук вновь попадает на микрофон.

Учитывая всё это, для проведения комфортного слухопротезирования слуховой аппарат должен:

Подобным требованиям в наибольшей степени отвечают современные многоканальные цифровые аппараты с компрессией в широком диапазоне частот. Кроме того, в последнее время появились цифровые слуховые аппараты для открытого протезирования, которые, кроме того, обеспечивают отсутствие эффекта "окклюзии". В цифровом слуховом аппарате поступающие сигналы преобразуются в двоичный код и обрабатываются с большим быстродействием в процессоре.

Слухопротезирование может быть моноауральное, когда протезируется одно, как правило, лучше слышащее ухо, и бинауральное, когда протезируются оба уха двумя слуховыми аппаратами. В настоящее время рекомендуется бинауральное протезирование, которое имеет существенные преимущества: бинауральный слух имеет пониженную громкость (на 4-7 дБ, что ведет к расширению полезного динамического диапазона; локализация источника звука приближается к физиологической норме, отчего гораздо легче сосредоточить свое внимание на определённом собеседнике.

На сегодняшний день технические возможности современных слуховых аппаратов позволяют в большинстве случаев корректировать даже сложные формы нейросенсорной тугоухости. Эффективность слухопротезирования определяется тем, насколько соответствуют индивидуальные особенности слуха пациента техническим возможностям слухового аппарата и параметрам настройки. Надлежащим образом подобранные слуховые аппараты могут улучшить общение для 90% людей с нарушениями слуха.

Была проведена электроакустическая коррекция слуха у 117 пациентов, 73,5% (n=86) - цифровыми аппаратами, остальные аналоговыми. У 23% (n=27, 54 уха) больных проведено бинауральное слухопротезирование.

Качество электроакустической коррекции слуха оценивали на основании слухового и речевого развития ребенка и динамического тестирования сурдопедагогом. При проведении коррекции важными факторами явились правильность выбора параметров слухового аппарата, адекватность настройки слухового аппарата, своевременность коррекции слуха и регулярный сурдопедагогический контроль.

По результатам исследования больным, которые ранее не носили слуховой аппарат, ношение уже через месяц улучшило восприятие звуков, улучшилось настроение, мотивация к занятиям с сурдопедагогом, желание к новым познаниям – улучшилась социальная адаптация. Такие изменения были маловыражены в группе детей при ношении и аналоговых слуховых аппаратов, что связано с их низкими способностями для коррекции нейросенсорной тугоухости. Электроакустическая коррекция детей до 5 лет показала наилучшие результаты в группе детей до 3-х лет – дети начинали активно имитировать характеристики речи окружающих людей, у больных II, III степенью НСТ – отмечено формирование речи уже через 6 месяцев после начала ношения слухового аппарата. Реакция на звуки отмечена у всех больных, даже при начале коррекции слуха в позднем возрасте.

Оценка слухового восприятия и речевого развития производилась на основе наблюдений родителей и специалиста -

сурдопедагога. Вначале сурдопедагог оценивал состояние речевого развития и способность к словесному общению (у детей старше 5лет):

«Дневник наблюдений» - записи ведут родители. Они заполняют графы соответствующих разделов фактическим материалом, полученным в результате наблюдений за ребенком в течение всего дня в различных ситуациях. Эти записи пополняются и анализируются специалистом-педагогом, который осуществляет коррекционный процесс во время индивидуальных занятий. Записи в дневнике ведутся регулярно (1- 2 раза в неделю). Это является важным условием для осуществления контроля деятельности родителей и членов семьи. Дневник ведется в специальной тетради. Он состоит из 2-х частей: развитие слухового восприятия, развитие устной речи. Каждая часть содержит определенные графы.

При выявлении у детей с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью при мутация гена коннексина Sx26 с тугоухостью IV степени и глухотой можно рекомендовать КИ.

Хирургическое лечение нейросенсорной тугоухости проводится при НСТ IV степени, единственным хирургическим методом лечения на сегодняшний момент является кохлеарная имплантация. При этом следует отметить что ННСТ является идеальной для проведения кохлеарной имплантации, так как наличие мутации 35delG в гене GJB2 означает наличиепатологии распространения электрического сигнала и синхронизации активности в возбудимых тканях улитки, связанных с мутацией белка коннексина. Данное обстоятельство исключает наличие других изменений в улитке, прогнозирует максимальный положительный эффект от операции кохлеарной имплантации. Дети с несиндромальной тугоухостью при мутациях в гене Sx26 отличаются нормальной функцией мозга и прекрасным развитием речи в процессе использования кохлеарного импланта. В то время как нарушения слуха, при которых мутации в гене Sx26 не обнаружены, представляют гетерогенные заболевания. Последние могут иначе повлиять на речевое развитие.

В наших исследованиях у 17 детей с ННСТ в возрасте до 5 лет с НСТ III-IV степени, с моноуральным слухопротезированием вошли в государственную программу проведения кохлеарной имплантации. Опыт ношения слуховых аппаратов у них составил от 3 месяцев до 9 месяцев, занятия с сурдопедагогом в среднем 4 месяца. При этом отмечено ответ на звуковые раздражители: звонок в дверь, громкие хлопки, отклик на имя при высоких тонах; появление всех гласных звуков, положительная реакция в виде условного рефлекса на определенный звуковой раздражитель уже в первые три месяца реабилитации. В послеоперационном периоде эти дети продолжили реабилитационные мероприятия. Максимальный срок после операции составил 12 месяцев, хорошие результаты в виде положительного ответа на все звуковые раздражители, повтор слов в виде разговорной речи с расстояния 6 метров, появление односложных предложений и чтение простых односложных стихов.

Профилактика наследственной нейросенсорной тугоухости детей

Дальнейшее изучение заболеваний с наследственным предрасположением открывает широкие перспективы развития профилактического направления, позволяя формировать «группы высокого риска» проявления определённых болезней. Такая профилактическая медицина будет в соответствии с уникальным генотипом того или иного человека, она будет индивидуальной, направлена не на популяцию в целом.

Когда речь идет о профилактической медицине, становится понятна значимость и необходимость выявления групп повышенного генетического риска конкретного заболевания на основании анализа семейных данных и создание для них оптимальных условий среды с исключением патогенных факторов риска этого заболевания.

Особенно важен такой подход в отношении болезней, проявляющихся в раннем детском возрасте, развитие которых зависит от генетической предрасположенности в сочетании с

неблагоприятными внешними факторами (вредные привычки, загрязнение окружающей среды, производственные факторы) для проведения своевременных, адекватных и целенаправленных мер ранней профилактики многих заболеваний.

Первичная профилактика нарушения слуха предупреждает само возникновение болезни. Сюда относятся медико-генетическое консультирование семьи с отягощенным анамнезом, проведение молекулярной диагностики и консультации генетика на определение вероятности рождения потомства с патологией слуха. При обнаружении мутаций в гене Sx26 всем членам семьи детородного возраста рекомендуется тестирование гена. На учет ставятся лица — носители патологических мутаций. В каждом конкретном случае в ходе обязательного медико-генетического консультирования оговариваются меры профилактики повторных случаев в данной семье и в последующих ее поколениях.

Вторичная профилактика нарушений слуха позволяет диагностировать болезнь на ранних стадиях и провести своевременное лечение. Такая профилактика включает раннее выявление у детей патологии органа слуха. Сюда относятся скрининг новорожденных на наличие патологии слуха.

Внедрение универсального аудиологического скрининга, основанного на регистрации задержанной вызванной отоакустической эмиссии (ЗВОАЭ), коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП) или стационарных слуховых вызванных потенциалов ствола мозга (СВП) всем новорожденным во всех родильных домах и родильных отделениях обеспечит выявление детей с патологией слуха, что даст возможность начать своевременное лечение и раннюю реабилитацию с возможно нормальным появлением речи у детей с патологией слуха.

В связи с этим очевидно, что раннее обнаружение патологии слуховой функции позволяет начать своевременную медико-педагогическую и социальную реабилитацию детей.

Так же внедрение системы генетический скрининга на наличие мутации в гене 35delG в гене GJB2, как самого распространенного генетически причинного фактора патологии слуха. Таким образом, молекулярный диагноз очень важен для

клинической диагностики, выбора метода реабилитации и лечения. Тяжелая ННСТ является прямым показанием для ДНК-диагностики мутаций в гене Sx26. Родителям детей с НСТ средней и легкой степени также оправдано предлагать ДНК-диагностику.

Третичная профилактика нарушений слуха у детей и взрослых ориентирована на предотвращение ухудшения или осложнения заболевания.

Таким образом, нарушения слуха в виде ННСТ, связанные с изменениями в гене Sx26 требуют проведения скорейших комплексных медико-реабилитационных мероприятий, включающих применение препарата инстенона при НСТ для профилактики прогрессирования тугоухости и улучшения восприятия корковых структур центра слуха; а так же как можно скорейшее проведение слухопротезирования и по показаниям операции кохлеарной имплантации как единственно возможного метода коррекции слуха и активное проведение сурдопедагогических мероприятий.

Следует отметить, что вышеуказанные мероприятия невозможны без проведения профилактических мероприятий в виде молекулярной диагностики, медико-генетического консультирования, аудиологического скрининга для чего необходимо активное взаимодействие специалистов, решающих вопросы лечения, профилактики и прогнозирования врожденной и ранней детской тугоухости.

5.2. Алгоритм диагностики и прогнозирования несиндромальной нейросенсорной тугоухости

На основании проведенных нами исследований и данных зарубежных исследований нами разработаны алгоритмы и схема первичного обследования пациента с нарушением слуха для выявления наследственных форм нейросенсорной тугоухости. Основная цель данной схемы является выявление наиболее существенных данных необходимых для выяснения наследственной этиологии, показать последовательность действий при медико-генетическом консультировании. Данная схема ориентирована в первую очередь на врачей сурдологов (рис. 5.1)

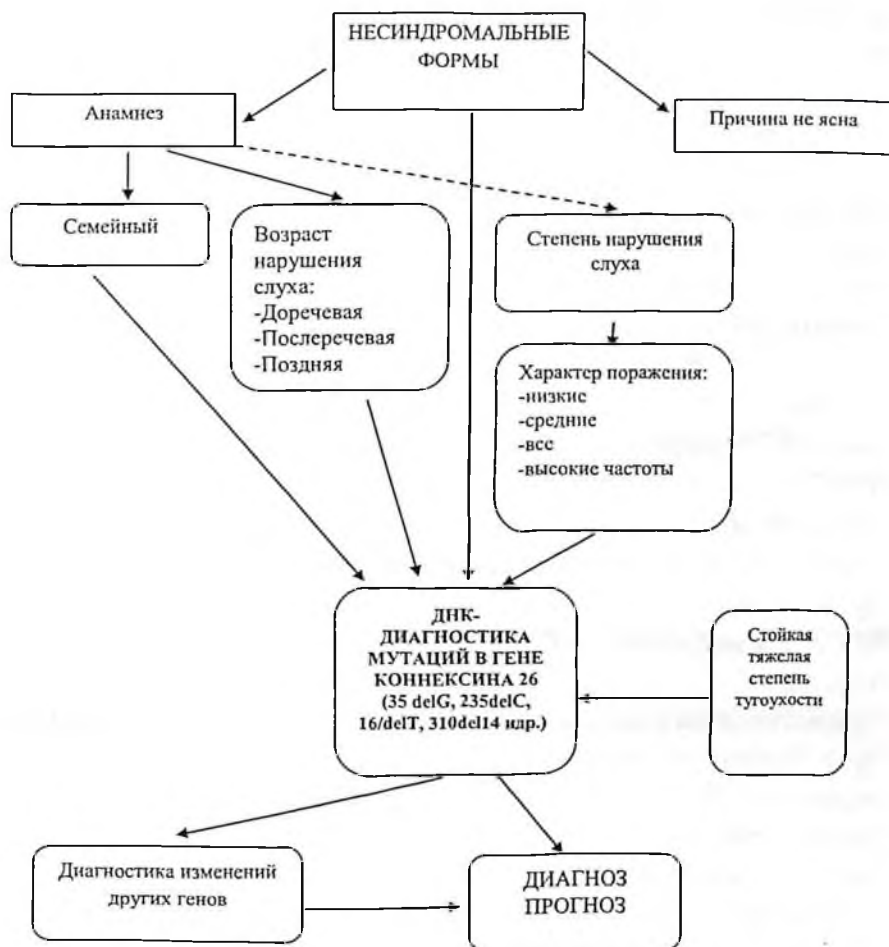


Рис. 5.1. Алгоритм первичного обследования пациента с нарушением слуха

При установлении ННСТ можно сразу направить пациента на ДНК-диагностику гена *Sx26*. Одновременно с этим более детально выяснить анамнез заболевания, семейный анамнез, характер нарушения слуха, установить возраст начала тугоухости. Все эти сведения будут необходимы для дальнейшего консультирования по результатам тестирования. Следует помнить, что опрос требует определенного времени, и чем меньше его затрачивается, тем

больше риск получения неполной или недостоверной информации. При неясной этиологии тугоухости генетическое тестирование строго обязательно. Составление родословной позволяет не только определиться в типе наследования, но и установить круг лиц, которые по результатам анализов могут оказаться в группе риска по наследственной тугоухости. Поэтому напрашивается вывод, что ННСТ является генетически детерминированным заболеванием с мультифакториальной наследственной передачей, а эффект наличия инбридинга не повышает частоту рецессивных генов, а лишь способствует более частой их гомозиготизации.

Таким образом, проведенное нами исследование позволило выявить определенное влияние инбридинга на детерминацию ННСТ, на формирование наследственной тугоухости у ближайших родственников в двух популяциях (панмиксия, инбридинг). По этому, на наш взгляд, необходимо учитывать клинические и аудиологические особенности которые характерны как панмиксной, так и для инбредной ННСТ у детей, которые вносят определенные коррективы в ведении таких больных. Следовательно, теоретически, при вступлении в брак детей с нормальным слухом, лишь в одном из трех вариантов возможен дальнейший переход дефектного гена потомству. В этом случае инбредный брак создаст условия для 25% риска носительства дефектного гена у родившихся девочек и такому же риску развития заболевания у мальчиков.

При прогнозировании семьи в отношении риска появления нарушения слуха у ребенка возможно применение специального алгоритма (приложение).

Он также доступен любому врачу и предназначен для первичной оценки наличия в семье наследственных и приобретенных факторов риска. В зависимости от ответа предусмотрен переход к указанному пункту.

Для несиндромальной тугоухости добавляется тип наследования, поскольку среднего и/или внутреннего от него зависит прогноз потомства.

Все вышесказанное дает основание рассматривать эффектом, а

показатель инбредности- как один из факторов риска возникновения ННСТ у детей наличия инбридинга.

5.3. Показания к генетическому исследованию и определения групп риска детей с ННСТ

Проведенное исследование позволило получить определенные доказательства генетической предрасположенности к ННСТ как в условиях панмиксии. Так и при эффекте выделения инбридинга; уточнить соотношений, так и с позиций мультифакториального типа наследования; проверить некоторые генетические маркеры на наличие ассоциаций с ННСТ.

Касаясь вопроса медико-генетического консультирования, отметим, изучение данной проблемы показало, что наибольший удельный вес при консультировании занимают мультифакториальные болезни.

Генетическое консультирование начинается с установления диагноза, причем его значимость при разных типах наследственной патологии неодинакова. В меньшей степени он важен при менделирующих болезнях. В большей – при мультифакториальных, так как при последних риск поворота заболевания в семье от конкретной клинической формы, тяжести, характера течения.

Вторым этапом медико-генетического консультирования является прогнозирование вероятности болезни у родственников пробанда. Принципы расчета генетического риска для менделирующих болезней разработаны достаточно хорошо. По этому, если заболевание определяется каким либо фактором с установленным типом наследования, однозначно идентифицирован генотип родителей и исключена генетическая гетерогенность, то предсказание вероятности появления больного потомства в данном браке не представляет труда.

В самом начале нашей работы мы выяснили, что на практике отсутствовало четкое представление о показаниях для направления к врачу-генетику для ген диагностики. Мы хотели бы восполнить этот

пробел. Причем в показаниях разработанных нами учтены как лица с нарушением слуха, так и лица с нормальным слухом.

Показание к медико-генетическому исследованию:

1. Всем детям с ННСТ, выявленных с помощью слуховых тестов, и особенно детям с тугоухостью неясной этиологии. МГИ показано и их родственникам.

2. Детям из семей инбридингом, хотя родители имеют нормальный слух. В этом случае МГИ и ДНК-диагностика строго обязательны, детям даже если из панмиксных семьях с отягощенным анамнезом.

3. Носителям мутаций при планировании семьи особенно имбридинговом виде семьи и для прогноза потомства. Носители мутаций могут быть выявлены при скрининговых и популяционных исследованиях или при прохождении ДНК тестов по собственному желанию.

В любой момент жизни достаточно один раз пройти ген диагностику, а вот результаты могут пригодиться при прогнозе потомства. Для носителей патологических мутаций имеет значение генотип будущей пары. При выборе супруга с таким же генотипом, семья имеет высокий риск рождения глухого ребенка, 25%.

Если пара не является носителем подобных патологических мутаций, семья имеет общепопуляционный риск. Общепопуляционные носители мутаций могут происходить из разных семей. Это могут быть семьи со слышащими родителями с отягощенным панимиксных семьях. С неотягощенным семейным анамнезом у больных детей в инбридинговых семьях.

Семьи со слышащими родителями носителями рецессивных мутаций по законам Менделя в 25% имеют риск рождения глухого ребенка, а в 50% случаев способны передать одну мутацию здоровому потомству.

Таким образом, здоровые дети в панмиксных семьях могут быть гетерозиготными носителями. Так как мутации гена передаются из поколения в поколение, при этом никто о них не знает до тех пор, пока не произойдет встреча двух мутаций у одного

из потомков данных лиц и ребенок родится глухим. Это связано с тем, что рецессивными мутациями, чтобы развивалась патология необходимо встретить подобную мутацию. Одна мутация всегда будет переходить от родителей потомкам, ничем себя не проявляя.

Всегда здоровые братья и сестры детей с несиндромальными нарушениями слуха в инбредных семьях со слышащими родителями должны быть обследованы на возможное носительство мутаций в гене Sx26. При обнаружении мутации больной ребенок должен быть зачислен в группу риска по ННСТ. Родителям ребенка необходимо объяснить цель постановки на учет и необходимость обязательной консультации при планировании его семьи.

У родителей с нарушением слуха также могут рождаться здоровые дети. Это возможно, по крайней мере, в трех случаях:

1. Это когда родители, страдающие нарушением слуха, имеют приобретенную тугоухость, значит мутация не выявлено. Дети слышат нормально и не имеют мутаций.

2. При измененном генотипе одного из родителей с нарушением слуха имеет здоровых детей, которые являются гетерозиготными носителями патологической мутации.

3. Причиной ННСТ ребенка являются разные рецессивные гены, которые не связаны патогенетически. Эти дети из инбредных семей будут являться носителями патологических мутаций.

Если причиной ННСТ родителей ребенка являются разные рецессивные гены, то они тоже не связаны патогенетически. Все дети этих родителей будут иметь нормальный слух.

Что касается генотипа, в паниксных семьях то 25% потомков этих родителей будут иметь один нормальный и один мутантный аллель в каждом из этих генов, а 50% детей могут иметь только один мутантный аллель одного из генов. Они также должны входить в группу риска по наследственной ННСТ.

Если при ДНК-диагностике в этих генах будут обнаружены мутации, то по достижении возраста планирования семьи им необходимо проверить генотип выбранного супруга.

Поскольку слышащий ребенок родителей с нарушением слуха в первые годы жизни относится к группе риска по тугоухости и неоднократно проходит обследование для уточнения состояния слуха, то в это время надо обязательно проверить на ген диагностику этого больного ребенка.

Если при исследовании генотипа не выявлено большинства частых мутаций, то родители могут не переживать. Если определено носительство патологической мутации, то ребенок должен быть поставлен на специальный учет, а родители проинформированы о целях такого учета. Результаты ДНК-диагностики могут храниться в семье и в базе данных до востребования, когда возникнет необходимость выбрать партнера для планирования рождения детей.

При отсутствии скрининга гена *Sx26* на все мутации случаи гетерозиготного состояния по мутации 35delG наиболее сложны для диагностики причины нарушения слуха. Это состояние может быть вариантом биаллельного или дигенного наследования патологических мутаций или вариантом общепопуляционного гетерозиготного носительства. Поскольку носитель патологической мутации, как любой другой человек, может потерять слух в случае воздействия экзогенных факторов, в этом случае наличие мутации никак не задействовано.

Применительно к конкретной популяции сущность медико-генетического прогноза заключается в выявлении индивидуумов с повышенным риском развития заболевания в семьях панмиксии с отягаченным анамнезом и в инбредных семьях для последующей диспансеризации и первичной профилактики. По своей целевой направленности и используемой методологии он тесно смыкается с семейным прогнозом, однако полностью не исчерпывается им, так как в популяции всегда существует индивидуумы с высоким риском заболевания, которые не могут быть выявлены по пораженному пробанду при фенотипически здоровых родителях, сибсах.

Отсюда следует, что концепция полного риска ННСТ у детей должна охватывать как генетические (инбредные, панмиксные), так и средовые факторы.

Поэтому в случаях гетерозиготного состояния по одной из мутаций в гене Sx26 у лица с нарушением слуха особого внимания требуют следующие случаи:

- 1) если схожая мутация не обнаружена;
- 2) если анамнез заболевания и семейный анамнез не отягощен;
- 3) если нарушением слуха страдают не более одного родственника или оба родителя в панмиксных семьях.

Чтобы избежать целого ряда сложностей в диагностике, рекомендуется проведение анализа сразу всем членам семьи: ребенку и его родителям. Консультация семей с подтвержденным несиндромальным нейросенсорным нарушением слуха позволяет выделить группы риска по нарушению слуха среди населения.

Группы риска по несиндромальным формам тугоухости

1. Дети со стойким нарушением слуха не воспалительного характера.
2. Дети без нарушения слуха с отягощенным семейным анамнезом.
3. Родственники первой степени родства или члены семьи панмиксии и инбридинга.
4. Близкие родственники больных детей с нарушением слуха (бабушки, дедушки, дяди, тети, двоюродные сибсы).
5. Дальние родственники больных детей ННСТ.
6. Родители ребенка, имеющие кровное родство или близкую брачную дистанцию (инбридинг).
7. Здоровые носители мутаций, выявленные в результате ДНК-тестов.

Как показали результаты исследований, родственники с нарушением слуха должны быть учтены независимо степени их родства, называемой причины (после заболевания, контузии, травмы, старческая, производственная) и других клинических характеристик потери слуха.

Таким образом, особое значение генетическое тестирование приобретает в случаях, когда установить тип тугоухости не представляется возможным. Особенно, при спорадических случаях.

Кроме того, в семье может отмечаться клинически разные тугоухости, например, односторонняя глухота у одного родителя и двусторонняя тугоухость легкой степени у другого, при этом ребенок страдает двусторонней глухотой и необходим прогноз для будущего ребенка.

По нашим данным молекулярная диагностика может внести ясность в диагностике заболевания в ряде других случаях и помочь поставить более точный прогноз.

ВЫВОДЫ:

1. Предложенный алгоритм клинического обследования и методы ДНК-диагностики являются необходимой мерой системной профилактики несиндромальных нарушений слуха среди населения и показаниями для направления к врачу генетику, позволяют проводить консультирование еще до рождения первого ребенка и при планировании второго, одновременно помогая преодолеть страх перед «наследственностью».

2. Внедрение системы генетического скрининга на наличие мутации 35 delG в гене GJB2 наряду с аудиологическим скринингом будет способствовать своевременному выявлению детей с нарушением слуха и эффективной профилактике новых случаев наследственной тугоухости.

3. Наблюдение в инбридинговой среде на предмет развития ранних форм тяжелых нарушений слуха с обязательным проведением аудио- и ДНК-скрининга без учета отягощенности анамнеза будет способствовать ранней профилактике и диагностике наследственных форм нарушений слуха у детей.

4. Для профилактики и прогнозирования новых случаев рождения несиндромальной тугоухости требуется системный подход к выявлению групп риска среди населения, скрининга новорожденных, ген диагностики на мутации, выявление группы риска и здоровых носителей гетерзиготных мутаций.

5. Эффективность профилактики наследственных форм врожденной тугоухости и глухоты зависит от внедрения МГК и ДНК-диагностики, что диктует необходимость проведения обязательного аудиологического и молекулярно-генетического обследования детей.

6. Кровнородственные браки (имбридинг) способствуют увеличению частоты наследственных болезней, врожденных уродств, более тяжелому клиническому течению заболевания и основной причиной наследственной формы тугоухости у детей.

Приложение

Алгоритм прогнозирования потомства в отношении риска рождения детей с нарушением слуха

	Ключевые моменты	Ответ	
		«Да»	«Нет»
1.	Родители родственники	группа риска -▶ п.15	группа риска -▶ п.15
2.	Родители не имеют никаких родственных связей	п.4	п.2
3.	Родители родственники (близкие родственники – дети родных братьев и сестер)	группа риска -▶ п.15	группа риска -▶ п.15
4.	Родители (мужчина и женщина) имеют нормальный слух	п.4	п.2
5.	Нарушение слуха у обоих супругов	группа риска -▶ п.4	п.3
6.	Нарушение слуха у одного из супругов	группа риска -▶ п.4	п.1
7.	Наличие детей в семье	п.5	п.10 и п.15
8.	Нормальный слух у детей слышащей пары	п.10	п.8
9.	Нарушение слуха у детей слышащей пары	группа риска -▶ п.10 и п.15	п.10 и п.15
10.	Нарушение слуха у детей тугоухой пары	группа риска -▶ п.15, риск от 50 до 100 %	п.17, риск рождения носителей
11.	Случаи тугоухости среди близких родственников (бабушки и/или дедушки, дяди, тети)	группа риска -▶ п.15	-▶ п.15
12.	Случаи нарушения слуха у двоюродных братьев и/или сестер	группа риска -▶ п.15	-▶ п.15
13.	Консультированы врачом-генетиком	п.16	Направить на МГК
14.	Поставлен диагноз синдрома, сопровождающегося нарушением слуха	п.21	п.17

15.	Наличие результатов ДНК-диагностики на мутации Sx26 в супружеской паре.	п.18	Направить на анализ
16.	Положительные результаты (наличие мутаций) у обоих супругов	группа риска	п. 19
17.	Отрицательные результаты (мутации в гене Sx26 не обнаружены) у обоих супругов	п.20	
18.	Наличие экзогенных факторов риска по нарушениям слуха: <ul style="list-style-type: none"> • Вес при рождении менее 1500 грамм • Гипербиллирубинемия на уровне, требующем знаменного переливания крови. • Длительная ИВЛ (более 5 дней) • Ототоксичные лекарственные препараты (во множественных курсах или в комбинации с петлевыми диуретиками). 	один и/или более - экзогенная этиология	этиология неясна, следует искать изменения в генах, п.15
19.	Время действия факторов риска связано с началом потери слуха	<i>Экзогенная этиология</i>	<i>этиология неясна, п.15</i>
20.	Положительные результаты слуховых тестов при рождении	<i>Врожденная тугоухость</i>	-
21.	Отрицательные результаты ОАЭ при рождении	<i>Врожденная тугоухость</i>	-
22.	Обнаружена патология уха	п.15 и п.21	п.15

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агзамова Г.С., Ходжаева К.А., Хасанов У.С., Тургунов Б.И. Раннее реабилитационное лечение больных после слухоулучшающих операций. //Республика илмий-амалий конференцияситезислар туплами «Болалар оториноларингологиясининг долзарб муаммолари». 28-29 сентябрь, 2006, - Тошкент. - 3-4 бет.
2. Агзамходжаев С.С. Этиология детской тугоухости в социально-гигиеническом аспекте //Республика илмий-амалий конференцияситезислар туплами «Болалар оториноларингологиясининг долзарб муаммолари». 28-29 сентябрь, 2006.- Тошкент. - 2-3 бет.
3. Альтман Я.А., Тавартикладзе Г.А. Руководство по аудиологии. -М.: ДМК Пресс, 2003.- 360с.
4. Барашков Н.А. Молекулярно-генетическое изучение наследственной несиндромальной сенсоневральной глухоты в республике Саха (Якутия): Авт. дисс. ... канд.биол.наук.– Уфа, 2007.
5. Барашков Н.А., Джемилева Л.У., Федорова С.А. и др. Мутации гена коннексина 26 (GJB2) у больных наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухостью в Республике Саха (Якутия) // Вестник оториноларингологии. - 2008. - №5. - С.23-28.
6. Барашков Н.А., Тетюрин Ф.М., Сухомясова А.Л. Анализ распространенности мутации 35delG гена GJB2 у пациентов с нейросенсорной тугоухостью в Якутии//Наука и образование. -2006. – Том 42, №2.-С.129-133.
7. Барашнев Ю.И., Бахарев В.А., Новиков П.В. Диагностика и лечение врожденных и наследственных заболеваний у детей (Путеводитель по клинической генетике). – Москва: «Триада-Х», 2004. - 550 с.
8. Беличева Э.Г. Острая и внезапная сенсоневральная тугоухость: этиология, клиника, диагностика, эффективность ранней этиопатогенетической терапии: Дис. ... д-ра мед.наук. - Санкт-Петербург, 2008.- 217 с.
9. Богмилский М.Р. Состояние слуха у детей с задержкой речевого развития //Вестник оторинолар.-2006.-№4.-С.6-8.
10. Богомилский М.Р., Чистякова В.Р.. Детская оториноларингология: Руководство для врачей /Под ред. М.Р.Богомилского, В.Р. Чистяковой. В двух томах. Т. I.- М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 660с.
11. Босимов М.Ш., Пак А.А., Бобониязов К.К., Нишанбаев К.Н. Глухота при наследственных заболеваниях у детей //Республика илмий-амалий конференцияситезислар туплами «Болалар оториноларингологиясининг долзарб муаммолари». 28-29 сентябрь, 2006, Тошкент.7-8 бет.
12. Бузруков Б.Т. Клинико-генетический анализ некоторых аспектов этиопатогенеза первичной глаукомы в условиях панмиксии и инбридинга: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.-Т., 2008.-30 с.
13. Гинтер Е.К. Медицинская генетика: Учебник / Е.К.Гинтер.-М.: Медицина, 2003. – 448с.
14. Ельчинова Г.И., Тереховская И.Г., Осетрова А.А., Порядина О.А.,

Зинченко Р.А. Анализ распределения фамилий и случайный инбридинг в Кировской области // Генетика. - 2009. - Том 45, №10. - С. 1411-1419.

15. Журавский С.Г. SJB2 - Ген глухоты: от научных открытий к практическому приложению//Рос.оторинолар.-2006.- №.3(22).-С.8-16.

16. Журавский С.Г. Молекулярно-генетические аспекты сенсоневральных слуховых расстройств//Материалы XVII съезда оториноларингологов России (тезисы), Нижний-Новгород 7-9 июня 2006г.- Санкт-Петербург, 2006.-С.25.

17. 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.

18. Загорянская М.Е., РумянцевА.М.Г., ДайнякЛ.Б.. Нарушение слуха у детей: эпидемиологическое исследование //Вестник оторинолар.-2003.-№6.- С.7-10.

19. Зинченко Р.А., Шаронова Е.И, Осетрова А.А. Молекулярно-генетические основы изолированной нейросенсорной тугоухости в Кировской области // 1 Республиканский съезд мед.генетиков Казахстана 22-23 октября 2009 г. Алматы. - 2009. - С. 71-72.

20. Зинченко С.П. Генетико-эпидемиологическое исследование наследственной глухоты в республике Чувашия: Дисс. ... канд.мед.наук., МГНЦ – Москва, 2007. - 134 с.

21. Зинченко С.П., КирилловаА.Г., Аbruкова А.В.и др. Генетико-эпидемиологическое исследование наследственных (изолированных и синдромальных) нарушений слуха в Республике Чувашия //Медицинская генетика.- 2007. – Том 6, №5.-С. 19-29.

22. Ижевская В.Л. Этические и правовые аспекты генетического тестирования и скрининга //Медицинскаягенетика.-2006. – Том 5, Приложение 1.-С.3-9.

23. Коваленко С.Л. Ранняя диагностика тугоухости у детей дошкольного возраста:Дис. ...канд. мед. наук. - Москва, 2008.- 163 с.

24. Кононова С.К., ФедороваС.А., Степанова С.К.и др. Организационные, методические и этические проблемы ДНК-диагностики моногенных заболеваний в практике медико-генетической консультации Якутии //Медицинская генетика.- 2006. – Том 5, Приложение 1.-С.14-18.

25. Косяков С.Я., Атанесян А.Г., Цаголова К.С. Нейротропная терапия в лечении острой сенсоневральной тугоухости после перенесенной вирусной инфекции//Вестник оториноларингологии. – 2014. - №1.-С.55-57.

26. Левин С.В. Использование слуховых вызванных потенциалов в современных аудиологических исследованиях:Дис. ...канд. мед.наук. - Санкт-Петербург, 2009.- 163 с.

27. Маркова Т.Г. Клинико-генетический анализ врожденной и доречевой тугоухости: Автореф.дисс. ... д-ра мед.наук.- Москва. - 2008.

28. Маркова Т.Г., Поляков А.В., Кунельская Н. Л. Клиника нарушений слуха, обусловленных изменениями в гене коннексина 26 // Вестник оториноларингологии. - 2008. - №2. - С.4-9.

29. Маркова Т. Г., Поляков А. В. Успехи генетического тестирования и вопросы профилактики наследственных нарушений слуха // Вести оторинолар. - 2006. - Том 4. - С. 9-14.
30. Махкамова Н.Э. Клиническая характеристика хронической тугоухости у детей с врожденной расщелиной неба // Журнал вушных, носовых и горловых хвороб. - Киев, 2005. - №1. - С.73-74.
31. Мурзабаева С.Ш., Магжанов Р.В., Хуснутдинова Э.К. Медико-генетическая помощь населению Республики Башкортостан. В книге: ДНК-диагностика и профилактика наследственной патологии в Республике Башкортостан / Под ред. проф. Э.К. Хуснутдиновой. - Уфа: Китап, 2005. - 204с.
32. Омонов Ш.Э., Дадашев Ш.Т. Статистический анализ стационарных больных детей с сенсоневральной тугоухостью за период с 2000 по 2004 гг. // Стоматология. - 2005. - №1-2. - С.26-27.
33. Осетрова А.А. Генетико-эпидемиологическое изучение наследственной тугоухости в Кировской области: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук - Москва, 2011.
34. Очилзода А.А. Аудиологическая характеристика различных форм тугоухости у детей младшего возраста // Республика илмий-амалий конференция с тезисами «Болалар оториноларингологияси-нинг долзарб муаммолари». 28-29 сентябрь, 2006. - Тошкент, 2006. - 33-34 б.
35. Панахян В.М. Эпидемиологическая карта врожденных и наследственных нарушений слуха у населения Баку // Вестник оторинолар. - 2007. - №2. - С.30.
36. Поляков А.В. Стратегия идентификации генетических локусов при гетерогенных менделирующих наследственных заболеваниях: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. - Москва, 2002. - 47с.
37. Таварткиладзе Г.А. "Вестник оториноларингологии" - Новые горизонты (коммуникационные заболевания: экспериментальные и клинические подходы) // Вестник оторинолар. - 2006. - №5. - С.67-72.
38. Тверская С.М., Вассерман Н.Н., Шагина И.А. и др. Разработка ДНК-диагностики по требованиям - возможность рождения здорового ребенка в отягощенных семьях // Медицинская генетика. - 2003. - Том 2, №11. - С.491-495.
39. Хакимов А.М., Шомахмадов У.Ш., Исмаев Х.Х. Профилактика глухоты и тугоухости // Stomatologia. - Т., 2005. - №1-2. - С.181-182.
40. Хидиятова И.М., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К. Наследственная нейросенсорная тугоухость/глухота. ДНК-диагностика и профилактика наследственной патологии в Республике Башкортостан / Под ред. проф. Э.К. Хуснутдиновой. - Уфа: Китап, 2005. - 204с.
41. Ходжаева К.А. Нейросенсорная тугоухость: актуальность проблемы, аспекты этиопатогенеза и вопросы терапии // Журнал теоритич. и клинич. Медицины. - Ташкент, 2005. - №1. - С.91-96.
42. Хушвакова Н.Ж. Клинико-генетический анализ нейросенсорной тугоухости у детей в условиях панмиксии и инбридинга // Вестник КазНМУ. - 2014. - №2(3). - С.111-113.
43. Хушвакова Н.Ж., Насретдинова М.Т., Карабаев Х.Э. Оптимизация

исследование слуха у новорожденных детей //Вестник КазНМУ. -2014.- №2(3).- С.80-81.

44. Хушвакова Н.Ж., Давронова Г.Б., Соатмуродов Х. Оптимизация лечения нейросенсорной тугоухости у детей с неврологической патологией//Вестник КазНМУ. -2014.-№4.- С.68-69.

45. Хушвакова Н.Ж., Насретдинова М.Т., Кодиров О.Н., Халбоев А.А.Применение коротколатентных слуховых вызванных потенциалов (КСВП) при диагностике нарушения слуха у детей// «Оториноларингологиянинг замонавий йўналишлари» мавзусидаги Ўзбекистон оториноларингологларининг IVсъезди. 15-май, 2016,-Тошкент.- 38 бет.

46. Хушвакова Н.Ж., Насретдинова М.Т., Нурмухаммедов Ф.О., Применение аудиологического обследования детей дошкольного возраста// «Оториноларингологиянинг замонавий йўналишлари» мавзусидаги Ўзбекистон оториноларингологларининг IVсъезди. 15-май, 2016,-Тошкент.- 39 бет.

47. Хушвакова Н.Ж., Давронова Г.Б., Исакова Ю.Н. Эффективность озонотерапии при нейросенсорной тугоухости сосудистого генеза // Интер-медикал. -2015.-№5.- С.42-46.

48. Хушвакова Н.Ж., Давронова Г.Б., Исакова Ф.Ш. Усовершенствование методов лечения приобретенной сенсоневральной тугоухости генеза // Рос. оторинолар. -2015.-№4.(77)- С.102-105.

49. Хушвакова Н.Ж., Насретдинова М.Т., Исакова Ф.Ш. Применение нейромидина и инстенона в комплексном лечении нейросенсорной тугоухости// Материалы - научно-практической конференции оториноларингологов Республики Таджикистан с международным участием «Актуальные вопросы оториноларингологии» Посвящённой 80-летию со дня рождения член-корр. РАМН, профессора Ю.Б. Исхаки, 70-летию организации кафедры оториноларингологии.20-декабрь, 2012, Тожикистон.- 109-111бет.

50. Хушвакова Н.Ж., Хамракулова Н.О.Результаты обследования слуха и ген диагностики среди тугоухих детей специализированных интернатов г. Самарканд // Рос. оторинолар. -2011.-№6.(55)- С.181-183.

51. Хушвакова Н.Ж., Насретдинова М.Т., Нурмухаммедов Ф.О., Применение аудиологического обследования детей дошкольного возраста// «Оториноларингологиянинг замонавий йўналишлари» мавзусидаги Ўзбекистон оториноларингологларининг IVсъезди. 15-май, 2016,-Тошкент.- 39 бет.

52. Хушвакова Н.Ж., Хамракулова Н.О., Камилов Х.Б.Генетические аспекты и лечение наследственныхнесиндромальных нарушений слуха у детей// 51-ая научная конференция студентов Западно-Казахстанского государственного мед.унверситета имени Марата Оспанова с международным участием. 27 апреля, 2011, -Казахстан.-94-95.

53. Хушвакова Н.Ж., АрифовС.С.,Мухамедов Р.С.Коннексин 26 генида учрайдиган мутацияларда эшитиш заифлашувига олиб келувчи клиник аспектлар// Укув-услубий кулланма.Т., 2011 й.

54. Хушвакова Н.Ж., Хакимов А.М., Мухамедов Р.С. Молекуляр генетик текширишларнинг сурдологиядаги урни. Укув-услубий кулланма. Т., 2011 й.
55. Шайхова Х.Э., Тухтаев М.Б. Реабилитация детей с нарушениями слуха и речи // Республика илмий-амалий конференция ситезислар туплами «Болалар оториноларингологиясининг долзарб муаммолари». 28-29 сентябрь, 2006. – Тошкент, 2006. - 60-61 б.
56. Шаронова Е.И., Осетрова А.А., Зинченко Р.А. Наследственные нарушения слуха в Кировской области // Якутский медицинский журнал. - 2009. - № 2 (29). - С. 28-31.
57. Шахова Е.Г. Новые подходы к лечению и профилактике сенсоневральной тугоухости: Дис. ... д-ра мед. наук. - Москва, 2008. - 248 с.
58. Шокарев Р.А., Амелина С.С., Зинченко Р.А. и др. Роль мутации 35delG в возникновении наследственных форм нейросенсорной глухоты в Ростовской области // Медицинская генетика. - 2006. – Том 5, Приложение 1. - С.38-43.
59. Шокарев Р.А., Амелина С.С., Кривенцова Н.В. и др. Генетико-эпидемиологическое и молекулярно-генетическое исследование наследственной тугоухости в Ростовской области // Медицинская генетика. - 2005. - Том 4, №12. - С. 556-67.
60. Шомахмадов У.Ш., Хакимов А.М., Исмаатов Х.Х. Профилактика глухоты и тугоухости // Stomatologia. - Т. , 2005. - №1-2. - С.181-182.
61. Abidi O., Boulouiz R., Nahili H. et al. Carrier frequencies of mutations/polymorphisms in the connexin 26 Gene (GJB2) in the Moroccan population // Genetic Testing. - 2008. - Vol.12. - P.569-74.
62. Albert S., Blons H., Jonard L. et al. SLC26A4 gene is frequently involved in nonsyndromic hearing impairment with enlarged vestibular aqueduct in Caucasian populations // Eur. J Hum Genet. -2006.-Vol.14.-P.773-779.
63. Angeli S.I. Phenotype/genotype correlations in a DFNB1 cohort with ethnical-diversity // Laryngoscope. - 2008. - Vol. 118. - P.2014-23.
64. Antoniadis T., Pampanos A., Petersen M.B. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation // Prenat. Diagn. -2001.-Vol.21.-P. 10-13.
65. Amos K.S. The implications of genetic testing for deafness // Ear Hearing. -2003.-Vol.24, №4.-P.324-331.
66. Amos K.S., Delia Rocca M.G., Karchmer M.A. et al. Genetics content in the graduate audiology curriculum: a survey of academic programs // Am. J Audiol. -2004.-Vol.13.-P.126-134.
67. Avraham K.B. Hear come more genes // Nature Genet. -1998.- Vol.4.-P. 1238-1239.
68. Avraham K.B. Mouse models for deafness: lessons for the human inner ear and hearing loss // Ear Hear. -2003.-Vol.24.-P.332-341.
69. Bayazit Y.A., M. Yilmaz An overview of hereditary hearing loss // ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec. -2006.-Vol.68.-P.57-63.
70. Baysal E., Bayazit Y.A., Ceylaner S. et al. GJB2 and mitochondrial A1555G gene mutations in nonsyndromic profound hearing loss and carrier frequencies in healthy individuals // J Genet. 2008. - Vol. 87, №1. - P. 53-57.

71. Ben Said M., Hmani-Aifa M., Amar I. et al. High frequency of the p.R34X mutation in the TMC1 gene associated with nonsyndromic hearing loss is due to founder effects // *Genet Test Mol Biomarkers.* - 2010. - Vol. 14, №3. - P.307.
72. Bhalla S., Sharma R., Khandelwal G. et al. Low incidence of GJB2, GJB6 and mitochondrial DNA mutations in North Indian patients with non-syndromic hearing impairment // *Biochem Biophys Res Commun.* 2009. - Vol. 385. -P.445-448.
73. Bicego M., Beltramello M., Melchionda S. et al. Pathogenetic role of the deafness-related M34T mutation of Cx26 // *Hum Mol Genet.* - 2006. - Vol. 15.-P. 2569-2587.
74. Birkenhager R., Aschendorff A., Schipper J. et al. Non-syndromic hereditary hearing impairment // *Laryngorhinootologie* - 2007. - Vol. 86. - P.299-309
75. Bitner-Glindzicz M. Hereditary deafness and phenotyping in humans // *Br. Med. Bull.*-2002.-Vol.63.-P.73-94.
76. Bohm J., Munk-Schulenburg S.SALL 1 mutations in sporadic Townes-Brocks syndrome are of predominantly paternal origin without obvious paternal age effect // *Am.J Med Genet A.*-2006.-Vol.140.-P.1904-1908.
77. Braga M.C. Calculation of recurrence risks for heterogeneous genetic disorders // *Am J Med Genet.* -2000.-Vol.95.-P.36-42.
78. Capaccio P., Ottaviani F., Cuccarini V. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene mutations as risk factors for sudden hearing loss // *Am.J Otolaryngol.*-2005.-Vol.26.-P.383-387.
79. Charrier J.B., Tran Ba Huy P. Idiopathic sudden sensorineural hearing loss: a review // *Ann. Otorinolaryngol. chir. Cervicofac.*-2005.-Vol.122, N 1. - P. 3-17.
80. Chen X., Cao K., Zuo J. et al. High prevalence of the connexin 26 (GJB2) mutation in Chinese cochlear implant recipients. // *J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2009. - Vol. 71(4). - P. 212-15.
81. Chisolm T.H., Abrams H.B., McArdle R. Short- and long-term outcomes of audiological rehabilitation // *Ear Hear;* 2004. N 25. P. 464-467.
82. Choung Y.H. Functional study of GJB2 in hereditary hearing loss // *Laryngoscope.* -2002.-Vol. 112.-P. 1667-1671.
83. Coch E.S., Kelley P. M., Fowler T.W.Clinical studies of families with hearing loss attributable to mutations in the connexin26 gene // *Pediatrics.* -1999-Vol.103, №3.-P.546-550.
84. Conrad S., Rout A. Perceived occlusion and comfort in receiver-in-the-ear hearing aids // *Am. Journ. Audiol.* 2013. N 22 (2). P. 283-290.
85. Corwin J.T. Identifying the genes of hearing, deafness, dysequilibrium // *Proc. Nat. Acad. Sci.*-1998.-Vol.95.-P.12080-12082.
86. Cremers F.P. Genetic causes of hearing loss // *Curr.Opin.NeuroL*-1998.-Vol.II.-P.II-16.
87. Cremers F.P., Kimberling W.J., Kulm M.Development of a genotyping Microarray for Usher syndrome // *J Med Genet.* -2006.
88. Dahl H.H., Tobin S.E., Poulakis Z.et al.. The contribution of GJB2 mutations to slight or mild hearing loss in Australian elementary school children. // *J Med Genet.* -2006.-Vol.43.-P. 850-855.

89. Danilenko N.G. [et al.] Spectrum of genetic changes in patients with non-syndromic hearing impairment and extremely high carrier frequency of 35delG GJB2 mutation in Belarus // PLoS One 2012. Vol.7(5).P.36354
90. Davis R.R. Kozel P., Erway L.C.. Genetic influences in individual susceptibility to noise: a review //Noise.Health. -2003.-Vol.5.-P.19-28.
91. Evirgen N., Solak M., Derekoş S. et al. Genotyping for Cx26 and Cx30 mutations in cases with congenital hearing loss // Genet Test. - 2008. — Vol. 12, №2.-P.253-56.
92. Finsterer J., Fellingner J.. Nuclear and mitochondrial genes mutated in nonsyndromic impaired hearing //Int. J. Pediatr. Otorhin.-2005.-Vol.69.-P.621-647.
93. Fischel-Ghodsian N. Mitochondrial deafness //Ear Hear.-2003.-Vol.24.-P.303.
94. Forge A., Becker D., Casalotti S. Connexins and gap junctions in the inner ear //Audiol.Neurootol.-2002.-Vol.7.-P.141-145.
95. Frolenkov G.I., Belyantseva I.A., Friedman T.B. Genetic insights into the morphogenesis of inner ear hair cells//Nat Rev.Genet.- 2004. -Vol.5.-P.489-498.
96. Gardner P, Oitmaa E., Messner A., et al. Simultaneous multigene mutation detection in patients with sensorineural hearing loss through a novel diagnostic microarray: a new approach for newborn screening follow-up //Pediatrics.-2006.-Vol.118.-P.985-994.
97. Griz S., Mercés G., Menezes D. et al. Newborn hearing screening: An outpatient model // Int J Pediatr Otorhinolaryngol.- 2009. - Vol. 73. - P. 1-7.
98. Han S.H., Park H.J., Kang E.J. et al. Carrier frequency of GJB2 (connexin-26) mutations causing inherited deafness in the Korean population // J Hum Genet. - 2008. - Vol. 53. - P. 1022-28.
99. Hawkins R.D., Lovett M.. The developmental genetics of auditory hair cells //Hum Mol.Genet. - 2004.-Vol.13.-P. 289-296.
100. Hong J.Y., Oh I. H., Jung T.S., Kim T.H., Kang H.M., Yeo S.G. Clinical Reasons for Returning Hearing Aids // Korean Jurn. Audiol. 2014. Vol. 18(1). P. 8-12.
101. Hulcrants E., Nosrati-Zarenoe R., Arlinger S. A national database could solve the issue of sudden sensorineural hearing loss // Lakartidningen. -2003. - Vol. 100 , N39. - P. 3055-3059.
102. Ing P.S., Lempke M.L., Smith S.D. et al. Availability of genetic services to the deaf //AmJ Med Genet. -1989.-Vol.34.-P.300-301.
103. Iwasaki S., Harada D., Usami S. et al.. Association of clinical features with mutation of TECTA in a family with autosomal dominant hearing loss //Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.-2002.-Vol. 128, №8.-P.913-917.
104. Jay W. Hall . New Handbook of Auditory Evoked Responses. - 2007
105. Joseph A.Y., Rasool T.J. High frequency of connexin26 (GJB2) mutations associated with nonsyndromic hearing loss in the population of Kerala, India // Int J Pediatr Otorhinolaryngol. - 2009. - Vol. 73. - P.437-43.
106. Kabátová Z., Pavlovčinová G., Profant M. Newborn hearing screening and strategy for early detection of hearing loss in infants // Int J Pediatr Otorhinolaryngol. - 2009. -Vol. 73, №4. - P: 607-12.

107. Kawasaki A., Fukushima K., Kataoka Y. et al. Using assessment of higher brain functions of children with GJB2-associated deafness and cochlear implants as a procedure to evaluate language development // *Int.J Pediatr.Otorhinolaryngol.*-2006.-Vol.70.-P.1343-1349.
108. Khandelwal G., Bhalla S., Khullar M., Panda N.K. High frequency of heterozygosity in GJB2 mutations among patients with non-syndromic hearing loss // *J Laryngol Otol.* - 2009. - Vol. 123, №3. - P: 273-77.
109. Kitajiri S., McNamara R., Makishima T., et al. Identities, frequencies and origins of TMC1 mutations causing DFNB7/B11 deafness in Pakistan // *Clin. Genet.* - 2007. - Vol.72. - P. 546-50.
110. Kitamura K., Takahashi K., Tamagawa Y. et al. Deafness genes // *J Med Dent.Sci.*-2000.-Vol.47.-P.1-11.
111. Khushvakova N.J. Clinical and molecular-genetic investigation of non-syndromic hearing disorders in children of the Uzbek population. *Open Access Research Journal, www.pieb.cz Medical and Health Sciences Journal, MHSJ, Volum 2 ISSN: 1804-8884 (Print): 18-21.*
112. Koehne P.S., Huseman D., Walch E. Genetic deafness in a preterm infant with a critical postnatal course // *Pediatr.Crit. Care Med.*-2006.-Vol.7.-P.270-272.
113. Kokotas H., Van Laer L., Grigoriadou M. et al. Strong linkage disequilibrium for the frequent GJB2 35delG mutation in the Greek population // *Am J Med Genet A.* - 2008. - Vol. 146. - P. 2879-84.
114. Korres S.G., Balatsouras D.G., Gkoritsa E. et al. Success rate of newborn and follow-up screening of hearing using otoacoustic emissions // *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* - 2006. - Vol. 70, №6. - P. 1039-1043.
115. Lattig M.C., Gelvez N., Plaza S.L. et al. Deafness on the island of Providencia Colombia: different etiology, different genetic counseling // *Genet Couns.*-2008. - Vol. 19. -P.403-12.
116. Liu X.Z., Pandya A., Angeli S. et al. Audiological features of GJB2 (connexin 26) deafness // *Ear Hear.*-2005.-Vol.26.-P.361-369.
117. Litovsky K.Y., Johnstone P.M., Godaretal S., Bilateral cochlear implants in children: localization acuity measured with minimum audible angle // *Ear Hear.* - 2006.-Vol.27.wl.-P.43-59.
118. Low W.K., Pang K.Y., Ho L.Y., Lim S.B., Joseph R. Universal newborn hearing screening in Singapore: the need, implementation and challenges // *Ann Acad Med Singapore.* - 2005. - Vol. 34, №4. - P. 301-306.
119. Marlin S., Feldmann D., Blons H. et al. GJB2 and GJB6 mutations: genotypic and phenotypic correlations in a large cohort of hearing-impaired patients // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*-2005.-Vol.131.-P.481-487.
120. Mondelli M.F., Garcia T.M., Hashimoto F.M., Rocha A.V. Open fitting: performance verification of receiver in the ear and receiver in the aid // *Braz. J. Otorinolaryngol.* 2015. Vol. 81(3). P. 270-275.
121. Morton C.C. Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system // *Hum Mol Genet.* - 2002. - №11. - P. 1229-1240.
122. Morzaria S., Westerberg D., Kozak F.K.. Evidence-based algorithm for the evaluation of a child with bilateral sensorineural hearing loss // *J Otolaryngol.*-2005.-Vol.34.-P.297 -303.

123. Norris V.W., Arnos K.S., Hanks W.D. Does universal newborn hearing screening identify all children with GJB2 (Connexin 26) deafness Penetrance of GJB2 deafness // *Ear Hear.*-2006.-Vol.27.-P.732-741.
124. Oguchi T., Ohtsuka A. Clinical features of patients with GJB2 (connexin 26) mutations: severity of hearing loss is con-elated with genotypes and protein expression patterns // *J. Hum. Genet.*-2005.-Vol.50.-P.76.
125. Petersen M.B., Willems P.J.. Non-syndromic, autosomal-recessive deafness // *Clin. Genet.* -2006.-Vol.69.-P.371-392.
126. Petit C. From deafness genes to hearing mechanisms: harmony and counterpoint // *Trends Mol. Med.* -2006.-Vol.12.-P.57-64.
127. Pfister M., Akyildiz S., Gunhan O. et al. A patient database application for Hereditary Deafness Epidemiology and Clinical Research (H.E.A.R.): an effort for standardization in multiple languages // *Eur. Arch. Otorhinola-ryngol.*-2003.-Vol.260.-P.81-85.
128. Piatto V.B., Nascimento E.C., Alexandrino F. Molecular genetics of non-syndromic deafness // *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*-2005.-Vol.71, №2.-P.216-223.
129. Posukh O., N.Pallares-Ruiz, V.Tadinova et al.. First molecular screening of deafness in the Altai Republic population // *BMC. Med Genet*-2005.-Vol.6, №12.-P.1-7.
130. Putcha G.V., Bejjani B.A., Bleoo S. et al.. A multicenter study of the frequency and distribution of GJB2 and GJB6 mutations in a large North American cohort // *Genet Med.* -2007.-Vol.9.-P.413-426.
131. Rabionet R., Lopez-Bigas N., Arbones M.L. Connexin mutations in hearing loss, dermatological and neurological disorders // *Trends Mol. Med.* -2002.-Vol.8.-P.205-212.
132. Ramsebner R., Volker R., Lucas T. et al.. High incidence of GJB2 mutations during screening of newborns for hearing loss in Austria // *Ear Hear.*-2007.-Vol.28.-P.298-301.
133. Rehm H.L. A genetic approach to the child with sensorineural hearing loss // *Semin. Perinatol.*-2005.-Vol.29.-P.173-181.
134. Robson C.D. Congenital hearing impairment // *Pediatr. Radiol.*-2006.-Vol.36.-P.309-324.
135. Roux A.F., Faugere V., Guedard S.Lc.. Survey of the frequency of USH1 gene mutations in a cohort of Usher patients shows the importance of cadherin 23 and protocadherin 15 genes // *J Med Genet.* -2006.-Vol.43.-P.763-768.
136. Rubak T., Kock S. The risk of tinnitus following occupational noise exposure in workers with hearing loss or normal hearing/ Koefoed-Nielsen et al. // *Int. J. Audiol.*, 2008.-Vol.47, N 3.-P/109-114.
137. Schapira A.H. Mitochondrial disease // *Lancet.* -2006.-Vol.368.-P.70-82.
138. Schrijver I. Hereditary sensorineural hearing loss: advances in molecular genetics and mutation analysis // *Expert. Rev. Mol. Diagn.*-2006.-Vol.6.-P.375-386.
139. Siemering K., Manji S.M., Hutchison W.M. Detection of mutations in genes associated with hearing loss using a microarray-based approach // *J. Molec. Diag.*-2006. -Vol.8, №4.-P.483-489.
140. Smith R.J., Bale J.F.. White Sensorineural hearing loss in children // *Lancet.*-2005.-Vol.365.-P.879-890.

141. Snoeckx R.L., Huygen P.L., Feldmann D. et al. GJB2 mutations and degree of hearing loss: a multicenter study // *Am.J. Hum. Genet.*-2005.-Vol.77.-P.945-957.
142. Stacey P.C., Fortnum H.M., Barton G.R., Summerfield A.Q. Hearing-Impaired Children in the United Kingdom, I: Auditory Performance, Communication Skills, Educational Achievements, Quality of Life, and Cochlear Implantation // *Ear & Hearing.* - 2006.-Vol. 27, №2.-P.161-186
143. Staecker H., Brough D.E., Practorius M. Drug delivery to the inner ear using gene therapy // *Otolaryngol. Clin. North Am.*-2004.-Vol.37.-P. 1091.
144. Sterna O., Prooina N., Grinfelde I. et al. Spectrum and frequency of the GJB2 gene mutations among Latvian patients with prelingual nonsyndromic hearing loss // *Proceedings of the Latvian Academy of Sci. Section B.* - 2009.-Vol. 63, № 4/5. - P. 198-203.
145. Taneja P.R., Pandya A., Foley D.L. et al. Attitudes of deaf individuals towards genetic testing // *Am.J Med Genet A.* -2004.-Vol.130.-P. 17-21.
146. Tang L.S.. Sensorineural hearing loss: Potential therapies and gene targets for drug development // *AUBMBXife.* -2006.-Vol.58.-P.525-530.
147. Tsukamoto K., Suzuki H., Harada D. Distribution and frequencies of PDS (SLC26A4) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese // *Eur.J Hum Genet.* -2003.-Vol. 11.-P.916-922.
148. White T.W., Deans M.R., Kelsell D.P. Connexin mutations in deafness // *Nature.*-1998.-Vol.394.-P.630-631.
149. Wiley S. Higher brain functions of GJB2-associated deafness // *Int.J Pediatr.Otorhinolaryngol.*-2007.-Vol.71.-P.513-514.
150. Yaeger D., Mc Callum J., Lewis K. Outcomes of clinical examination and genetic testing of 500 individuals with hearing loss evaluated through a genetics of hearing loss clinic / D.Yaeger, J.McCallum, K.Lewis et al. // *Am.J Med Genet A.* - 2006.-Vol.140.-P.827-836.
151. Yehudai D., Shoefeld Y., Toube E. The autoimmune characteristic of progressive of sudden sensorineural hearing loss // *Autoimmunity.* - 2006. - Vol. 39, №2. - P. 153-158.
152. Zehnder A.F., Adams J.C., Santi P.A. Distribution of type IV collagen in the cochlea in Alport syndrome // *Arch.Otolaryngol.Head Neck Surg.*-2005.-Vol. 131.-P. 1007-1013.
158. Zhao H. B., Kikuchi T., Ngezahayo A. Gap junctions and cochlear homeostasis // *J. Membr. Biol.*-2006.-Vol.209.-P. 177-186.

**Основные адреса Интернета
по программе «Геном человека» (ПГЧ)**

1. Доступ к общей информации <http://www.ornl.gov/hgmis>
2. Национальный институт по исследованию генома человека www.nhgri.nih.gov
3. Нац. центр биотехн. информ. (NCBI) (OMIM) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
4. Геномика — наука о жизни deogenomestolife.org
5. ПГЧ и экология www.niehs.nih.gov/envgenom/home.htm
6. Анатомия генома человека и рак www.ncbi.nlm.gov/ncicgap/
7. SNP-консорциум snp.cshi.org
8. Медицина и новая генетика <http://www.ornl.gov/medicine/medicine.html>
9. Геном и предиктивная медицина <http://www2.cdc.gov/nceh/genetics>
10. Геном, медицина и общество (справочное издание) www.ornl.gov/hgmis/launchpad/
11. Этнические, юридические и социальные аспекты ПГЧ www.ornl.gov/hgmis/elsi/elsi.html
12. «Черновой вариант» генома www.ornl.gov/hgmis/project/journals.html
13. ПГЧ для преподавателей www.ornl.gov/hgmis/education/education.html
14. ПГЧ для студентов www.ornl.gov/hgmis/education/students.html

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние десятилетия молекулярная биология развивается исключительно быстрыми темпами, открытие следует за открытием. Общее направление этих открытий – выработка представлений о сущности жизни, о природе ее фундаментальных черт – наследственности и изменчивости. Расшифровка строения генома для истории человечества – событие столь же ключевое, как открытие электричества и атомной энергии. Какие тайны хранит человеческий геном? Человек, наконец, получил химическую, молекулярную основу для того, чтобы познать самого себя. Известный генетик Джереми Рифкин сказал: «Кому принадлежит гены – тому принадлежит XX! Столетие». Вместо с тем, всё впереди, сегодня начинается самое главное, и, впрочем, достижения всей современной генетики в целом, - «это не конец, это даже не начало конца. Это только конец начала».

Интерес к генетике невероятно высок, и этому есть объяснения: новые возможности ранней диагностики, разработка индивидуальных методов лечения, эффективная профилактика. В своей книге мы представили наработанные данные, позволяющие в определенной степени характеризовать особенности развития наследственной нейросенсорной тугоухости в нашей стране, оптимизировать методы диагностики и лечения, заложить основы создания «генетического паспорта» наследственной нейросенсорной тугоухости в узбекской популяции. Сегодня мы только прикоснулись к самому главному, впереди много тайн. Древние греки говорили, что знание представляет собой радиус круга, а незнание – длину окружности. С определением структуры ДНК вырос радиус понимания, но в месте с тем еще больше выросла и длина окружности, «...но что может быть увлекательнее и интереснее, чем познание самого себя?! Нужно лишь работать, много работать и верить в будущий успех, и тогда все будет хорошо...» (S. Edelstein, 2007).

ХУШВАКОВА Нилюфар Журакуловна

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ
ТУГОУХОСТИ У ДЕТЕЙ
монография**

технический редактор Ш.Камилов

Подписано в печать 24.01.2017 г.
формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ус.п.л. 10,5
тираж 150 эк. Заказ № 03/01.

отпечатано в ЧП “Насимов Ф.”
ул. Муаззамхон, 34

