

на правах рукописи

Алексеева Наталья Николаевна

**КЛИНИКО-АУДИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ВРОЖДЕННОЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ
ТУГОУХОСТИ ЛЕГКОЙ И УМЕРЕННОЙ СТЕПЕНИ**

3.1.3. Оториноларингология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

МОСКВА – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Маркова Татьяна Геннадьевна

Официальные оппоненты:

Пашков Александр Владимирович, доктор медицинских наук, заведующий отделом оториноларингологии и сурдологии НКЦ №2 ФГБНУ РНЦХ имени академика Б.В. Петровского

Савельева Елена Евгеньевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «03» октября 2023 года в 10 часов на заседании диссертационного совета 21.3.054.03 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, 19 и на сайте: <http://www.rmapo.ru/>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Карпова Елена Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Нарушение слуха является серьезной проблемой для людей любого возраста и относится к социально значимым заболеваниям. Эпидемиологическими исследованиями показано, что 2–4 ребенка из 1000 здоровых новорожденных имеют нарушение слуха [Fortnum H.M., 2001; Mehl A.L., Thomson V., 2002; Russ S.A., 2003; Загорянская М.Е., Румянцева М.Г., 2011]. Негативные последствия врожденной тугоухости сказываются не только на развитии речи и познавательной сферы, страдает и психологическое благополучие ребенка и его родителей [Idstad M., 2019; Wang J., 2019]. Своевременная реабилитация позволяет слабослышащим детям правильно сформировать речевые навыки, сопоставимые со здоровыми сверстниками [Yoshinaga-Itano C., 1998; Sininger Y.S., 1999, 2010].

В результате внедрения программы универсального аудиологического скрининга новорожденных в России увеличилось число детей с врожденной тугоухостью легкой и умеренной степени, выявляемых в роддоме в первые месяцы жизни [Чибисова С.С., 2018], при этом не менее 85% случаев врожденных нарушений слуха составляет сенсоневральная тугоухость (СНТ) [Fortnum H.M., 2001; Маркова Т.Г., 2008; Кисина А.Г., Карпова Е.П., 2013; Чибисова С.С., 2018]. Наблюдения показывают, что диагноз тугоухости, установленный в первые месяцы жизни ребенка, тяжело воспринимается многими родителями, при этом обеспокоенность здоровьем и будущим ребенка не зависит от выраженности нарушений слуха [Tueller S.J., 2016]. Установлено, что более половины случаев врожденной несиндромальной СНТ обусловлены различными генетическими причинами, среди которых до 80% составляют мутации в гене *GJB2* [Маркова Т.Г., 2008]. В группе двусторонних нарушений слуха легкой и умеренной степени распространенность генетических причин в настоящее время остается неизвестной. Нет достаточных данных, позволяющих дать прогноз и оценить вероятность прогрессирования при врожденных нарушениях слуха в этой группе пациентов.

Степень разработанности проблемы

С внедрением программ универсального аудиологического скрининга новорожденных, а также изучением генетики нарушений слуха изменилось представление о возрастной, этиологической и клинико-аудиологической структуре врожденной тугоухости [Кисина А.Г., 2013; Лалаянц М. Р., 2014; Пашков А.В., 2014; Чибисова С.С., 2018]. Появление новых технологий молекулярно-

генетического обследования позволило подтверждать наследственную этиологию [De Keulenaer S., 2012; Atik T., 2015; Bademci G., 2016]. К настоящему времени хорошо изучены аудиологические особенности наследственной несиндромальной сенсоневральной тугоухости, обусловленной мутациями в гене *GJB2*, для которых в большей степени характерно тяжелое нарушение слуха и глухота [Cryns K., 2004; Snoeckx R.L., 2005; Маркова Т.Г., 2008; Kenna M.A., 2010; Лалаянц М. Р., 2014; Chan D.K., 2014]. Этиологическая структура и вклад наследственной этиологии в группе пациентов с тугоухостью легкой и умеренной степени, аудиологические особенности при различных генотипах изучены недостаточно. В изученной литературе встречаются единичные зарубежные публикации [Wake M., 2006; Stenson P.D., 2014; Mizutari K., 2015], среди отечественных источников нами не обнаружено подобных работ. Данная проблема требует всесторонней оценки для формирования индивидуальной программы реабилитации.

В результате расшифровки генома человека открыто более 150 генов, мутации в которых обуславливают нарушение слуха. С учетом данных о распространенности врожденной тугоухости и доле наследственных нарушений слуха в ее структуре, а также масштаба целевой популяции необходима оценка клинико-аудиологических особенностей заболевания.

Разработка алгоритма этиологического поиска и определения тактики ведения пациентов при раннем выявлении врожденной СНТ легкой и умеренной степени позволит повысить эффективность сурдологической помощи.

В настоящее время изучена теоретическая база по вопросам аудиологической и молекулярно-генетической диагностики врожденной СНТ, выявлены литературные источники, которые могут быть особенно полезны при проведении исследования по данной теме.

В связи с изложенным, **целью настоящего исследования** является повышение эффективности сурдологической помощи пациентам с врожденной наследственной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени.

Задачи исследования

1. Проанализировать результаты аудиологического скрининга у детей с врожденной наследственной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени.
2. Проанализировать особенности генотипа у пациентов с врожденной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени.

3. Оценить аудиологические особенности врожденной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени при различных генотипах.

4. Изучить динамику порогов слышимости при различных генотипах.

5. Оптимизировать алгоритм оказания сурдологической помощи детям с двусторонней сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени.

Научная новизна

В ходе данного исследования установлено, что частота выявления патологического генотипа у пациентов с врожденной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени составляет 81%, при этом 66% случаев обусловлены мутациями в гене *GJB2*, в 12% причиной являются мутации в гене *STRC*, в 3% — в гене *USH2A*.

Определено, что диагностическая ценность метода массового параллельного секвенирования панели 30 генов, ассоциированных с несиндромальной сенсоневральной тугоухостью, при подтверждении наследственной этиологии врожденной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени составила 44%.

Установлено, что для врожденной наследственной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени характерно симметричное нарушение слуха с горизонтальным и пологонисходящим профилем аудиограммы и стабильными порогами слышимости. Выявлены клиничко-аудиологические особенности при отдельных патологических генотипах, которые позволяют оптимизировать последующий медико-генетический поиск.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что в ходе исследования впервые проведено изучение частоты патологических мутаций у пациентов с врожденной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени, основанное на молекулярно-генетической диагностике гена коннексина 26 и панели из 30 генов.

Впервые проанализированы результаты аудиологического скрининга у пациентов с врожденной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени наследственной этиологии.

В ходе проведенного исследования выявлены клиничко-аудиологические особенности, характерные для разных типов мутаций генов *GJB2*, *STRC*, *USH2A*, что позволяет ограничить молекулярно-генетическую диагностику исследованием отдельных генов, снизить затраты на обследование отдельного пациента и внедрить данный вид исследования в широкую практику.

На основании данных, полученных в ходе исследования, установлено, что программа универсального аудиологического скрининга новорожденных эффективна в отношении раннего выявления детей с врожденной тугоухостью легкой и умеренной степени, что позволило оптимизировать алгоритм сурдологической помощи данной категории пациентов.

Особую практическую значимость имеют полученные данные о стабильности порогов слышимости при врожденной наследственной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени, что позволяет прогнозировать течение заболевания и оптимизировать протокол динамического наблюдения данных пациентов.

Предложенный алгоритм этиологического поиска и определения тактики ведения пациентов при раннем выявлении врожденной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени позволит повысить эффективность сурдологической помощи.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Пациенты с врожденной двусторонней сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени в большинстве случаев имеют наследственную этиологию заболевания, которую возможно подтвердить только с помощью молекулярно-генетических методов исследования, что определяет необходимость включения данного исследования в стандарты оказания медицинской помощи детям с врожденной сенсоневральной тугоухостью.

2. Клинико-аудиологические особенности наиболее распространенных вариантов генотипов генов *GJB2*, *STRC*, *USH2A*, сопровождающихся врожденной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени, характеризуются симметричностью и стабильностью порогов слышимости, что позволяет прогнозировать течение заболевания и персонифицировать протокол динамического наблюдения

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности

Диссертация «Клинико-аудиологические особенности врожденной наследственной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени» соответствует формуле специальности 3.1.3. Оториноларингология и областям исследования: п. 1 «Исследования по изучению этиологии, патогенеза и распространенности ЛОР-заболеваний» и п. 2 «Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики ЛОР-заболеваний».

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенного исследования внедрены в практическую работу консультативно-диагностической поликлиники ФГБУ РНКЦ АиС ФМБА России; Городского детского консультативно-диагностического сурдологического центра ГБУЗ «НИКИО им. Л.И. Свержевского» ДЗМ; СПб ГКУЗ «Детский городской сурдологический центр». Результаты исследования включены в учебное пособие «Диагностика наследственных нарушений слуха в сурдологии. Несиндромальная тугоухость», утвержденное учебно-методическим советом ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России в 2018 году, в соответствующие разделы профессиональной образовательной программы ординатуры по специальности «Сурдология-оториноларингология», в учебные планы циклов повышения квалификации врачей-сурдологов-оториноларингологов кафедры сурдологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Результаты исследования включены в клинические рекомендации «Сенсоневральная тугоухость у детей», утвержденные Министерством здравоохранения РФ в 2021 году.

Апробация работы

Апробация диссертации состоялась 14 апреля 2023 года на расширенном заседании кафедр сурдологии и детской оториноларингологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, и сотрудников АНО НИИ ЭКА (протокол № 4/1 от 14.04.2023г.). Тема диссертации утверждена на заседании Совета хирургического факультета ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол № 10 от 17 декабря 2019 года.

Диссертационное исследование одобрено комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол № 10 от 20 сентября 2019 года.

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования: обзор отечественной и зарубежной литературы для выявления проблемы, формулирование цели и задач исследования, определение методических подходов для их достижения, разработка протокола исследования. Автором самостоятельно проведено аудиологическое обследование всех пациентов. Анализ и интерпретация полученных результатов, их обсуждение проводилось совместно с научным руководителем и соавторами публикаций. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы диссертационной работы сформулированы автором самостоятельно.

Публикации и участие в научных конференциях

По теме диссертации опубликовано 23 научных работы, из них 3 — в журналах из перечня отечественных научных изданий, а также 2 — в зарубежных научных журналах, индексируемых в международной базе данных (CiteScore – 3).

Основные положения диссертации доложены в виде научных докладов и обсуждены на 7-м, 8-м и 9-м Национальных конгрессах аудиологов и 11-м, 12-м и 13-м Международных симпозиумах «Современные проблемы физиологии и патологии слуха» (Суздаль, 2017, 2019, 2021 гг.), на XV и XVI Московской научно-практической конференции «Фармакологические и физические методы лечения в оториноларингологии» (Москва, 2017, 2018 гг.), на VII и VIII Петербургских международных форумах оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2018, 2019 гг.), на конференции «Hearing across the Lifespan» (Черноббио, Италия, 2018 гг.), на XIV Российском конгрессе оториноларингологов «Наука и практика в оториноларингологии» (Москва, 2019 г.), на III Всероссийском конгрессе Национальной медицинской ассоциации оториноларингологов (Нижний Новгород, 2019 г.).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, главы «Обзор литературы», главы «Материалы и методы исследования», главы «Результаты исследования», главы «Обсуждение результатов», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, библиографии, состоящей из 217 источников (36 отечественных и 181 зарубежных), приложений. Работа содержит 18 таблиц и 26 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включен 251 пациент с врожденной двусторонней СНТ, из них 130 пациентов мужского пола, 121 — женского пола, соотношение по полу 1,1/1. 168 пациентов родились в 2008 году и позже в период действия программы универсального аудиологического скрининга новорожденных (группа универсального аудиоскрининга), 55 пациентов — с 1996 по 2007 год рождения (группа целевого аудиоскрининга по факторам риска и поведенческим реакциям на звуки, 28 пациентов — 1995 года рождения и ранее (группа до аудиоскрининга).

Критерии включения пациентов в исследование: врожденная двусторонняя СНТ I–III степени; известные результаты молекулярно-генетического исследования всего гена *GJB2*, выполненное в условиях

одной лаборатории; согласие пациента или законных представителей на участие в исследовании. Критерии невключения пациентов в исследование: односторонняя СНТ; СНТ IV степени или глухота с одной или обеих сторон; врожденные аномалии развития внутреннего уха; клинические признаки синдромов, связанных с нарушением слуха; сопутствующие тяжелые заболевания центральной нервной системы, при которых невозможно проведение обследования в связи с ограничением коммуникативных и когнитивных возможностей пациента; пациенты (законные представители), не давшие согласие на участие в исследовании.

Методы исследования

Пациенты обследованы на клинических базах кафедры сурдологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России в консультативно-диагностической поликлинике ФГБУ РНЦЦ АиС ФМБА России и АНО НИИ ЭКА.

При сборе жалоб, анамнеза жизни и заболевания регистрировали дату рождения, место постоянного проживания, результаты аудиологического скрининга, возраст выявления тугоухости, результаты аудиологических обследований, выполненных до включения в исследование, данные семейного анамнеза по тугоухости и глухоте, наличие факторов риска по тугоухости, результаты медико-генетического тестирования на мутации в гене *GJB2*.

Результаты универсального аудиологического скрининга оценивались следующим образом: в группу «Не прошел» были включены дети с незарегистрированной отоакустической эмиссией с одной или с обеих сторон. В группу «Прошел» были включены дети с зарегистрированной отоакустической эмиссией с обеих сторон. В группу «Не проводился» были включены дети, у которых в медицинской документации отсутствовали сведения о проведении аудиологического скрининга, и родители/опекуны ребенка затруднялись оценить факт проведения и результат аудиологического скрининга.

Аудиологическое обследование

Тональную пороговую аудиометрию (ТПА) по воздушной и костной проводимости выполняли с использованием клинического двухканального аудиометра АС-40 (Interacoustics, Дания) с воздушными телефонами TDH39 и костным вибратором в частотном диапазоне 125–8000 Гц. Пациентам в возрасте 3–7 лет проводили игровую ТПА после предварительной выработки условно-двигательной реакции на звук.

Степень нарушения слуха оценивали в соответствии с Международной классификацией тугоухости [Таварткиладзе Г.А., 2013]. Средний порог слышимости по воздушному звукопроводению на

частотах 500 Гц, 1000 Гц, 2000 Гц и 4000 Гц в диапазоне 26–40 дБ соответствует I степени тугоухости (легкой), 41–55 дБ — II степени (умеренной), 56–70 дБ — III степени (умеренно тяжелой), 71–90 дБ — IV степени тугоухости (тяжелой), 91 дБ и более — глухоте. Для анализа клинико-аудиологических особенностей степень тугоухости учитывалась по лучше слышащему уху.

При оценке степени нарушения слуха у пациентов, которым первичный диагноз был установлен в раннем возрасте, ретроспективно учитывали результаты регистрации коротколатентных слуховых вызванных потенциалов на щелчок, полученные из медицинской документации пациентов. В этих случаях степень нарушения слуха оценивали в соответствии с приведенными выше критериями по порогу визуальной детекции V пика.

Нарушение слуха считали симметричным, если разность порогов визуальной детекции V пика или средних порогов слышимости между хуже и лучше слышащим ухом не превышала 15 дБ.

Профиль аудиограммы оценивали по соотношению порогов слышимости на частотах 0,5, 1, 2, 4 кГц по следующим критериям [Parker M.J. et al, 2000]: горизонтальный профиль (разница между минимальным и максимальным порогом не превышает 15 дБ); пологонисходящий профиль (порог на 4 кГц хуже среднего порога на 500 Гц и 1 кГц на 15–29 дБ); крутонисходящий профиль (порог на 4 кГц хуже среднего порога на 500 Гц и 1 кГц на 30 дБ и более); восходящий профиль (порог на 500 Гц хуже среднего порога на 2 и 4 кГц на 15 дБ и более); U-образный профиль (средний порог на частотах 1 и 2 кГц хуже каждого из порогов на 500 Гц и 4 кГц на 15 дБ и более); неспецифический профиль (не выполняется ни одно из условий).

Динамику нарушения слуха оценивали по разности порогов лучше слышащего уха, полученных при последнем и первом аудиологическом исследовании. Прогрессированием считали разность порогов, превышающую 15 дБ.

Акустическую импедансометрию (тимпанометрию и акустическую рефлексометрию) проводили с целью исключения патологии среднего уха и ретрокохlearной патологии с использованием импедансометра AZ-26 (Interacoustics, Дания) с зондирующим тоном 226 Гц интенсивностью 85 дБ УЗД и изменением давления в наружном слуховом проходе в диапазоне от +200 до –400 даПа. Результаты оценивали в соответствии с классификацией J. Jerger (1970).

Тугоухость расценивалась как врожденная на основании раннего выявления в результате аудиоскрининга, обнаружения патологического генотипа независимо от сроков выявления тугоухости, задержки

речевого развития или сомнительной реакции на звуки в отсутствие установленных причин приобретенной тугоухости.

Генетическое обследование

Пациентам без патологических мутаций в гене *GJB2* или имеющим только одну мутацию было проведено молекулярно-генетическое исследование таргетной панели «Наследственная тугоухость», включающей 30 генов наследственной тугоухости, на основе методов массового параллельного секвенирования (МПС-панели), разработанной в лаборатории ДНК-диагностики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва [Миронович О.Л., 2019]. Данная панель включает гены, в которых наиболее часто встречаются мутации при сенсоневральной тугоухости: *STRC*, *MYO7A*, *MYO15A*, *TECTA*, *SLC26A4*, *CDH23*, *USH2A*, *TMPRSS3*, *TMC1*, *COL11A2*, *OTOF*, *EYA1*, *OTOA*, *PCDH15*, *ADGRV1*, *KCNQ4*, *LOXHD1*, *WFS1*, *MYH14*, *MYO6*, *ACTG1*, *PTPRQ*, *MYH9*, *OTOGL*, *TRIOBP*, *CLDN14*, *LRTOMT*, *DFNB59 (PJKV)*, *TPRN*, *WHRN*.

Статистическая обработка результатов

Сбор медицинских данных осуществлялся в электронной системе Snailbase, разработанной в ФГБУ РНКЦ АиС ФМБА. Статистическую обработку данных проводили с помощью статистического пакета R. Для каждой переменной вычислялись медиана (Me), квартили (Q_{25} – Q_{75}), минимальное и максимальное значения (Min–Max). Статистическая значимость различий значений признаков в двух группах определялась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, различий частот признаков — с помощью критерия χ^2 , в трех и более группах по количественным показателям с помощью критерия Краскелла-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты универсального аудиологического скрининга новорожденных

Среди 168 пациентов, родившихся в период проведения универсального аудиоскрининга, результаты известны у 118 (70%) пациентов. Чувствительность универсального аудиологического скрининга в выявлении врожденной СНТ легкой и умеренной степени во всей группе составила 80%, при этом с увеличением тяжести нарушения слуха чувствительность скрининга повышается (таблица 1). Исследование не проводилось 50 (30%) пациентам (либо отсутствуют данные о факте и результате его проведения).

Распределение пациентов по результату универсального аудиоскрининга и степени нарушения слуха (n=118)

	Не прошел		Прошел		Всего
	N	%	N	%	
I степень	31	72	12	28	43
II степень	35	78	10	22	45
III степень	28	93	2	7	30
Всего	94	80	24	20	118

Медиана возраста выявления тугоухости легкой и умеренной степени в группе универсального аудиоскрининга вне зависимости от результата составила 16 месяцев (Q_{25} – Q_{75} — 5–48 месяцев, размах — 1–108 месяцев), в группе целевого аудиоскрининга — 57 месяцев (Q_{25} – Q_{75} — 43–81 месяцев, размах — 5–186 месяцев), в группе до аудиоскрининга — 102 месяца (Q_{25} – Q_{75} — 76–171 месяцев, размах — 36–588 месяцев); различия статистически значимы (критерий Краскела-Уоллиса, $p < 0,001$).

Диагноз тугоухости был установлен до 1 года у 80% (75/94) детей, выявленных в результате универсального аудиоскрининга, до 3 месяцев — только 16% (15/94). Медиана возраста выявления врожденной тугоухости легкой и умеренной степени у детей с результатом «Не прошел» составила 6 месяцев, с результатом «Прошел» — 44,5 месяцев, с результатом «Не проводился» — 51,5 месяцев; различия статистически значимы (критерий Краскела-Уоллиса, $p < 0,001$) (рисунок 1).

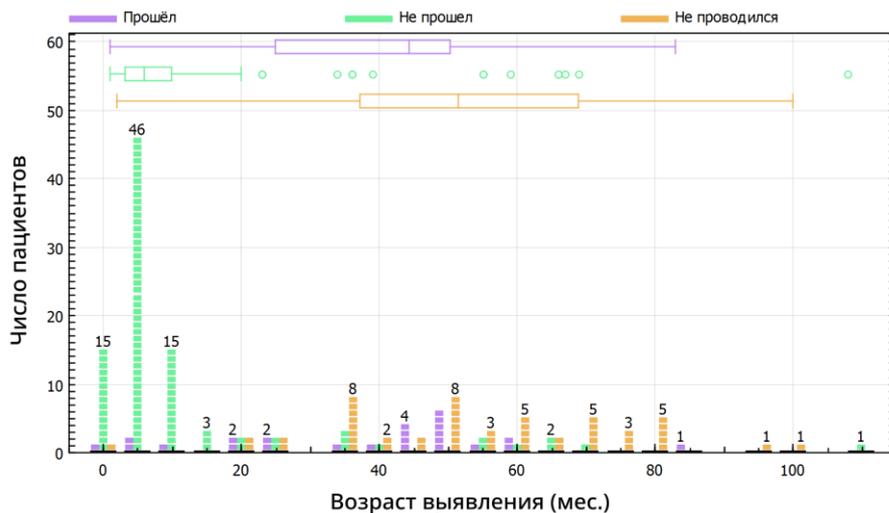


Рисунок 1. Распределение пациентов по возрасту выявления тугоухости в зависимости от факта проведения и результата универсального аудиоскрининга.

Полученные данные подтверждают врожденный характер наследственной СНТ. Основной причиной позднего выявления детей с наследственным нарушением слуха следует считать невыполнение скрининга новорожденному. Результат «Прошел» оказался ложноотрицательным в 20% проценте случаев наследственной тугоухости, но причины регистрации отоакустической эмиссии у таких пациентов до конца не понятны, и этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Особенности генотипа у пациентов с врожденной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени

Патологический генотип в гене *GJB2* был установлен у 165 из 251 пациента, что позволило подтвердить наследственную причину и аутосомно-рецессивный тип наследования у 66% пациентов в исследуемой когорте. Для детального анализа пациенты с патологическим генотипом в гене *GJB2* были распределены на 3 группы в зависимости от типа мутаций: ИМ_2 — 87 пациентов, имеющих в генотипе два патогенных инактивирующих варианта; ИМ_1 — 49 пациентов, имеющих в генотипе два патогенных варианта, инактивирующий и неинактивирующий; ИМ_0 — 29 пациентов, имеющих в генотипе два патогенных неинактивирующих варианта и, соответственно, ноль инактивирующих аллелей. Распределение пациентов по группам представлено в виде матрицы мутаций на рисунке 2.

	Инактивирующие варианты в обоих аллелях (ИМ_2)			Инактивирующие и неинактивирующие варианты (ИМ_1)			Неинактивирующие варианты в обоих аллелях (ИМ_0)												
	c.35delG	c.-23+1G>A	c.313_326del14	c.235delC	c.167delT	del(GJB2-D13S175)	p.Met34Thr	p.Val37Ile	p.Leu90Pro	c.358_360delGAG	p.Arg184Pro	p.Arg32Gly	p.Thr186Lys	p.Val27Ile;Glu114Gly	Всего				
c.35delG	61	10	5	4		1	18	9	6	3	1	1		1	120				
c.-23+1G>A		1	2	1	1		1	1	2		1		1		11				
c.313_326del14									2						2				
c.235delC					1					1					2				
c.31_68del37									1						1				
p.Met34Thr							12	8		2					22				
p.Val37Ile								1	1						2				
p.Leu90Pro									1						1				
p.Val153Ile									1						1				
p.Arg127His;Gly160Ser								1							1				
p.Arg184Gln										1					1				
p.Arg165Trp							1								1				
Всего	61	11	7	5	2	1	32	20	14	7	2	1	1	1	165				

Рисунок 2. Матрица мутаций гена *GJB2* и их комбинаций, выявленных в исследуемой группе.

Среди пациентов обследованной группы наиболее часто встречается патогенный вариант 35delG, аллельная частота которого составила 54,8%. В российских когортах пациентов с преобладанием тяжелой степени и глухоты аллельная частота данной мутации составила 77–87% [Маркова Т.Г., 2008; Близнец Е.А., 2012; Лалаянц М.Р., 2014; Bliznetz E.A., 2017; Миронович О.Л., 2019]. Высокая аллельная частота 35delG обусловлена высокой (до 6%) частотой носительства данной мутации в популяции европейской части России [Anichkina A., 2001; Маркова Т.Г., 2018].

Вариант Met34Thr является второй наиболее частой мутацией в данной группе пациентов (аллельная частота 16,7%). Мутации с.-23+1G>A и p.Val37Ile выявлены с аллельной частотой 6,4%, p.Leu90Pro — 4,6%, с.313_326del14 — 2,8%, с.235delC — 2,1%, с.358_360delGAG — 2,1%. Аллельная частота других выявленных мутаций составила менее 1%.

Мутации в гене *GJB2* не были обнаружены у 80 пациентов и 6 пациентов имели патогенные варианты только в одном аллеле. По результатам исследования таргетной МПС-панели «Наследственная тугоухость» патологический генотип подтвержден у 38 пациентов, не выявлено патогенных аллелей у 48 пациентов. Патогенные варианты у 30 пациентов выявлены в гене *STRC*, кодирующем белок стереоцилин, 8 пациентов имели патологический генотип в гене *USH2A*, кодирующем белок ашерин. Таким образом, в обследованной группе *GJB2*-негативных пациентов с врожденной СНТ легкой и умеренной степени наследственная этиология подтверждена при помощи таргетной МПС-панели в 44% случаев, из них 35% обусловлены мутациями в гене *STRC*, 9% — в гене *USH2A*.

В результате двухэтапного молекулярно-генетического исследования установлено, что частота выявления патологического генотипа у пациентов с врожденной СНТ легкой и умеренной степени составляет 81% во всей когорте (203/251). 66% (165/251) случаев обусловлены мутациями в гене *GJB2*, в 12% (30/251) причиной тугоухости являются мутации в гене *STRC*, в 3% (8/251) — в гене *USH2A*. Наследственный характер не удалось подтвердить только в 19% случаев.

Клинико-аудиологические особенности при различных генотипах

Ген GJB2 (коннексин 26)

Распределение пациентов по степени нарушения слуха, установленной при первичном аудиологическом обследовании, в разных группах генотипов гена *GJB2* представлено на рисунке 3. Выявлено

статистически значимое увеличение доли легких нарушений слуха у пациентов с наличием в генотипе хотя бы одной неинактивирующей мутации ($p < 0,00001$).

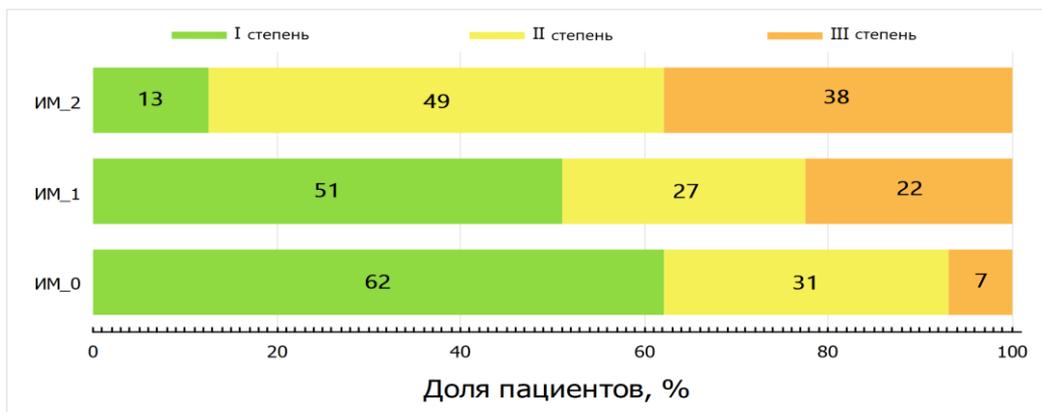


Рисунок 3. Распределение пациентов по степени нарушения слуха в зависимости от группы *GJB2*-генотипов ИМ_2, ИМ_1, ИМ_0.

В 90% (149/165) случаев междуушная разница не превышала 15 дБ во всех группах генотипов, что соответствует критерию симметричности. Различия между группами статистически не значимы ($p = 0,777$). Междуушная разница 16–30 дБ наблюдалась у 14 (9%) пациентов, более 30 дБ — у 2 (1%) пациентов.

Профиль аудиограмм по лучше слышащему уху был проанализирован у 156 пациентов (рисунок 4). Доля пациентов с горизонтальным и пологонисходящим профилем во всей группе составила 66%. Неспецифический профиль был выявлен во всех группах генотипов с частотой 22–29%. Крутонисходящий профиль был выявлен наиболее редко, в 8–15% случаев. Не было выявлено аудиограмм с U-образным и восходящим профилем.

Среди 165 пациентов с патологическим генотипом гена *GJB2* только у 4 (2%) пациентов выявлено повышение порогов более 15 дБ, при этом все они имели патологический генотип с двумя инактивирующими мутациями (группа ИМ_2). В группах ИМ_1 и ИМ_0 случаев прогрессирования не было выявлено.

При оценке зависимости выраженности изменений порогов от срока наблюдения во всех подгруппах генотипов не выявлено статистически значимых различий (коэффициент корреляции Пирсона, $p < 0,05$). Медиана распределения пациентов по длительности срока наблюдения составила 5 лет. Срок наблюдения более 10 лет был у 7 пациентов, при этом у них не выявлено случаев прогрессирования тугоухости.

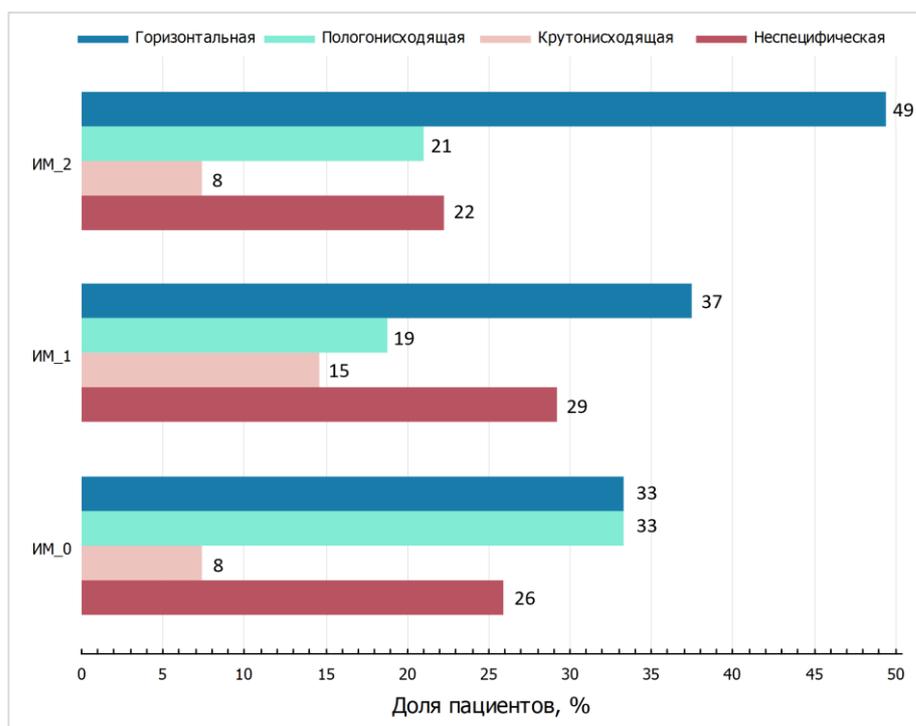


Рисунок 4. Доля пациентов с различным профилем аудиограммы в группах генотипов гена *GJB2*.

Ген STRC (стереоцилин)

Тугоухость I степени установлена у 12 пациентов (40%), II степени — у 18 пациентов (60%). Медиана распределения порогов слышимости — 42,5 дБ, Q_{25} – Q_{75} — 37,5–45 дБ, размах — 27,5–53,75 дБ. Во всех случаях междушная разница не превышает 15 дБ, что соответствует критерию симметричности нарушения слуха. Медиана распределения междушной разницы — 2,5 дБ, Q_{25} – Q_{75} — 1,25–5 дБ, размах — 0–11 дБ.

Профиль аудиограмм по лучше слышащему уху был проанализирован у 26 пациентов. Аудиограммы горизонтального профиля выявлены у 38% пациентов, 12% пациентов имели аудиограммы пологонисходящего, 46% пациентов — неспецифического профиля. Крутонисходящий профиль аудиограммы выявлен у одного пациента. В исследуемой группе не было выявлено аудиограмм с U-образным и восходящим профилем.

Динамика порогов изучена у 27 пациентов. Срок наблюдения составил 14–17 лет без признаков прогрессирования. Большинство пациентов наблюдались в течение 1–8 лет, прогрессирование было выявлено только у двух пациентов. Снижение порогов слышимости не более 5 дБ установлено у 11 пациентов. Таким образом, отсутствие прогрессирования отмечено в 93% случаев.

Ген *USH2A* (ашерин)

Патологический генотип в гене *USH2A*, в котором выявляют изменения при синдроме Ашера II типа, выявлен у 8 пациентов с двусторонней несиндромальной СНТ. Тугоухость II степени установлена у 4 пациентов, III степени — также у 4 пациентов. Медиана распределения порогов слышимости — 57,5 дБ, Q_{25} – Q_{75} — 55–60 дБ, размах — 47,5–61,25 дБ. Во всех случаях междушная разница не превышает 15 дБ, что соответствует критерию симметричности (медиана — 5 дБ, Q_{25} – Q_{75} — 3,75–5 дБ, размах — 0–5 дБ). Профиль аудиограмм проанализирован у 4 пациентов, из них у 2-х пациентов получены аудиограммы горизонтального профиля, у 1 пациента — пологонисходящего, у 1 пациента — неспецифического профиля.

Динамика порогов изучена у всех 8 пациентов, случаев прогрессирования не выявлено. У 3 пациентов, наблюдавшихся в течение 7–9 лет, разница порогов была в пределах погрешности измерения. У пациентки с наиболее длительным во всей исследуемой когорте сроком наблюдения (37 лет), разность порогов последней и первой аудиограммы составила 15 дБ, что не соответствует установленному в рамках данного исследования критерию прогрессирования.

Результаты, полученные в ходе проведенного исследования, позволили оптимизировать алгоритм оказания сурдологической помощи детям с двусторонней СНТ легкой и умеренной степени (рисунок 5).

Заключение

Исследование выполнено в группе 251 пациента с врожденной двусторонней СНТ легкой и умеренной степени 1969–2019 гг. рождения с известными результатами молекулярно-генетического исследования гена *GJB2*. Патологический генотип был подтвержден у 165 пациентов, остальным 86 пациентам было выполнено исследование МПС-панели «Наследственная тугоухость», включающей 30 генов. Мутации в гене *STRC* выявлены у 30 пациентов, в гене *USH2A* — у 8 пациентов (диагностическая ценность 44%). Установлено, что доля наследственной этиологии при врожденной СНТ легкой и умеренной степени составляет 81%.

Доказано, что чувствительность универсального аудиологического скрининга новорожденных в выявлении врожденной СНТ легкой и умеренной степени составляет 80%. Выявлено статистически значимое снижение возраста выявления врожденной СНТ легкой и умеренной степени в результате внедрения универсального аудиоскрининга по

сравнению с целевым аудиоскринингом или его отсутствием (критерий Краскела-Уолиса, $p < 0,001$).

При анализе результатов динамического аудиологического наблюдения при разных генотипах установлено, что при наличии двух инактивирующих мутаций в гене *GJB2* чаще наблюдается более тяжелая потеря слуха, вместе с тем данный генотип встречается и у пациентов с СНТ I степени. Наличие в генотипе одной или двух неинактивирующих мутаций фенотипически проявляется тугоухостью I–II степени. Для патологического генотипа в гене *STRC* характерна тугоухость I–II степени, *USH2A* — II–III степени. Нарушение слуха, обусловленное мутациями в гене *USH2A*, является ранним и единственным в первые декады жизни клиническим проявлением синдрома Ашера II типа. Доказано, что для всех изученных генотипов характерно симметричное нарушение слуха с преимущественно горизонтальным и пологонисходящим профилем аудиограммы и стабильными порогами слышимости.

Установленные клинико-аудиологические особенности позволяют предположить вероятность наличия тех или иных патогенных мутаций в определенных генах для оптимизации последующего медико-генетического поиска. Результаты проведенного исследования обуславливают необходимость включения двухэтапного молекулярно-генетического тестирования при СНТ любой степени в протокол комплексного обследования. Полученные результаты позволили оптимизировать алгоритм оказания сурдологической помощи детям с двусторонней СНТ легкой и умеренной степени как в отношении этиологического поиска, так и при формировании плана наблюдения и индивидуальной программы реабилитации.

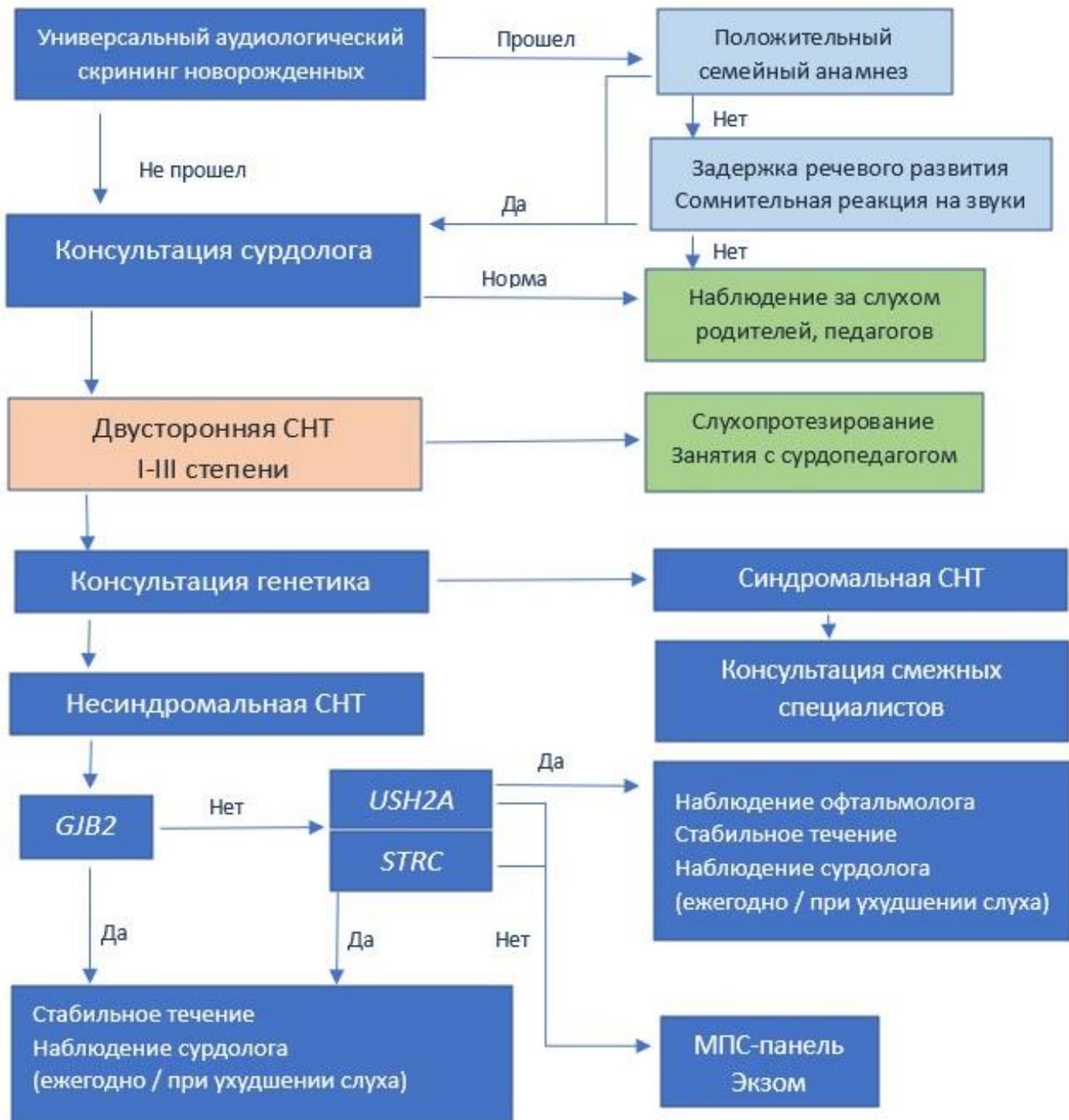


Рисунок 5. Алгоритм сурдологической помощи детям при врожденной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени.

Выводы

1. Доказано, что врожденная наследственная сенсоневральная тугоухость легкой и умеренной степени в 80% случаев выявляется универсальным аудиологическим скринингом новорожденных, в результате чего возраст первичной диагностики нарушений слуха снизился до 6 месяцев жизни ($p < 0,001$).

2. Выявлено, что врожденная двусторонняя сенсоневральная тугоухостью легкой и умеренной степени имеет наследственную этиологию заболевания в 81 % случаев. Нарушения слуха в 66% обусловлены мутациями в гене *GJB2*, в 12% — в гене *STRC*, в 3% — в гене *USH2A*.

3. При легкой и умеренной степени нарушения слуха эффективность таргетной панели из 30 генов, ассоциированных с двусторонней несиндромальной сенсоневральной тугоухостью, составляет 44%, в связи с чем рекомендовано включение молекулярно-генетического обследования в стандарт диагностики данной формы заболевания.

4. Установлено, что для *GJB2*-ассоциированной тугоухости легкой и умеренной степени характерно увеличение доли тугоухости I и II степени при наличии в генотипе хотя бы одной неинактивирующей мутации ($p < 0,001$). У 90% пациентов наблюдается симметричное нарушение слуха с обеих сторон, в 66% случаев определен горизонтальный и пологонисходящий профиль аудиограммы. В динамике клинически значимых изменений порогов не выявлено у 81% пациентов.

5. Установлено, что для пациентов с патогенными вариантами гена *STRC* характерно симметричное нарушение слуха I–II степени с горизонтальным или неспецифическим профилем аудиограммы. Динамическое наблюдение показало отсутствие клинически значимых изменений порогов в 85% случаев. Для пациентов с патогенными вариантами гена *USH2A* характерно симметричное нарушение слуха II–III степени горизонтального, пологонисходящего или неспецифического профиля. Стабильное течение заболевания выявлено в 75% случаев.

6. Разработанный на основе результатов исследования алгоритм сурдологической помощи детям с сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени, основанный на междисциплинарном взаимодействии специалистов сурдологов, генетиков и сурдопедагогов, позволит оптимизировать тактику ведения пациентов с данной формой нарушения слуха.

Практические рекомендации

1. При сомнительной реакции ребенка на звуки и нарушении речевого развития необходима аудиологическая диагностика с применением как объективных, так и психоакустических методов независимо от результатов аудиологического скрининга, поскольку при несиндромальной наследственной сенсоневральной тугоухости легкой и умеренной степени в 20% случаев регистрируются ложноотрицательные результаты аудиологического скрининга, основанного на регистрации отоакустической эмиссии.

2. Для пациентов с врожденной несиндромальной сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени характерен горизонтальный, пологонисходящий и неспецифический профиль аудиограммы, крутонисходящий профиль выявлен в единичных случаях.

Практическая значимость выражается в лучшей разборчивости речи, что является благоприятным вариантом при подборе и настройке слуховых аппаратов и выборе параметров электроакустической коррекции.

3. Включение молекулярно-генетического обследования в протокол стандарта диагностического обследования детей с сенсоневральной тугоухостью легкой и умеренной степени позволит установить наследственную этиологию заболевания и обеспечить своевременность медицинской и сурдопедагогической реабилитации.

4. На первом этапе молекулярно-генетического тестирования целесообразно ограничить поиск самыми частыми мутациями в гене *GJB2*. При отрицательном результате или выявлении только одного патогенного варианта на втором этапе необходимо проведение секвенирования всего гена *GJB2*.

5. Пациентам с *GJB2*-негативной тугоухостью необходимо рекомендовать проведение молекулярно-генетического исследования генов *STRC* и *USH2A*.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Возраст выявления врожденной тугоухости в условиях универсального аудиологического скрининга новорожденных / С.С. Чибисова, **Н.Н. Алексеева**, Т.Г. Маркова [и др.] // Материалы конференции «7-й Национальный конгресс аудиологов и 11-й Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 2017. – С. 48–49; 2 с./0,4 с.

2. Результаты аудиологического и генетического обследования пациентов с сенсоневральной тугоухостью I–II степени / **Н.Н. Алексеева**, Т.Г. Маркова, Е.А. Блинец [и др.] // Материалы конференции «7-й Национальный конгресс аудиологов и 11-й Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 2017. – С. 110–111; 2 с./0,4 с.

3. Нарушения слуха наследственной этиологии у пациентов с тугоухостью легкой и средней степени / **Н.Н. Алексеева**, Т.Г. Маркова, Е.А. Блинец [и др.] // Материалы VII Петербургского международного форума оториноларингологов России. – Санкт-Петербург, 25–27 апреля 2018 г. – С. 32–33; 2 с./0,33 с.

4. Effectiveness of Russian newborn hearing screening program in detection of congenital and prelingual hearing loss / S. Chibisova, **N. Alexeeva**, T. Markova [et al.] // Proceedings of the HEAL 2018 Conference. – Cernobbio, Italy 7–9 June 2018. – P. 76; 1 с./0,2 с.

5. *GJB2*-linked hearing loss does not change significantly from birth to adolescence / **N. Alexeeva.**, T. Markova, S. Chibisova [et al.] // Proceedings of the HEAL 2018 Conference. – Cernobbio, Italy 7–9 June 2018. – P. 164–165.

6. Эпидемиология нарушений слуха среди детей первого года жизни / **С.С. Чибисова, Т.Г. Маркова, Н.Н. Алексеева** [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2018. – № 4. – С. 37–42; 2 с./0,33 с. ИФ – 0,466.

7. Аудиологическая картина при нарушениях в генах, кодирующих белки стереоцилин и ушерин / **Н.Н. Алексеева, О.Л. Миронович, Т.Г. Маркова** [и др.] // Материалы VIII Петербургского форума оториноларингологов России. – Санкт-Петербург, 25–27 апреля 2019 г. – С. 37–38; 2 с./0,28 с.

8. Молекулярно-генетические причины и клиническое описание бронхо-ото-ренального синдрома / **О.Л. Миронович., Е.А. Близнец., Т.Г. Маркова, Н.Н. Алексеева** [и др.] // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 5. – С. 583–592; 10 с./1,43 с. ИФ – 0,892.

9. Клиническая и генетическая гетерогенность врожденной тугоухости / **Т.Г. Маркова, М.Р. Лалаянц, Н.Н. Алексеева** [и др.] // Материалы VIII Национального конгресса аудиологов и XII Международного Симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 10–12 сентября 2019 г. – С. 81–82; 2 с./0,2 с.

10. Нарушение слуха при мутациях Met34Thr и Leu90Pro в гене *GJB2* / **Н.Н. Алексеева, Т.Г. Маркова, Т.И. Голубева** [и др.] // Материалы VIII Национального конгресса аудиологов и XII Международного Симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 10–12 сентября 2019 г. – С. 14–15; 2 с./0,25 с.

11. Аудиологическая характеристика пациентов с мутациями в гене *STRC* / **Н.Н. Алексеева, Т.Г. Маркова, М.Р. Лалаянц** [и др.] // Материалы VIII Национального конгресса аудиологов и XII Международного Симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – Суздаль, 10–12 сентября 2019г. – С. 16–17; 2 с./0,28 с.

12. Нарушения слуха при некоторых формах наследственной тугоухости / **Н.Н. Алексеева, Т.Г. Маркова, О.Л. Шатохина** [и др.] // Материалы III Всероссийского конгресса национальной медицинской ассоциации оториноларингологов России. – 2019. С. 4–5; 2 с./0,33 с.

13. Нарушение слуха при мутациях или отсутствии гена, кодирующего белок стереоцилин / **Т.Г. Маркова, Н.Н. Алексеева, О.Л. Миронович** // Вестник оториноларингологии. – 2020. – Т. 85, № 2. – С. 14–20; 7 с./1 с. ИФ - 0,659.

14. Clinical features of hearing loss caused by *STRC* gene deletions/mutations in russian population / **T.G. Markova,**

N.N. Alekseeva, M.R. Lalayants [et al.] // International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. – 2020. – Vol. 138. – P. 110247; 9 с./1 с.

15. Наследственная тугоухость при мутациях в гене *STRC* / **Н.Н. Алексеева**, Т.Г. Маркова, С.С. Чибисова [и др.] // Материалы IX Международного Петербургского форума оториноларингологов России. – 2020. – С. 118–119; 2 с./0,28 с.

16. Значение генетических анализов в прогнозе реабилитации ребенка / Т.Г. Маркова, **Н.Н. Алексеева**, С.С. Чибисова // Альманах Института коррекционной педагогики. – 2021. – № 45 (5). – С. 15–25; 11 с./2,2 с.

17. Аудиологические фенотипы при различных генотипах *GJB2* / **Н.Н. Алексеева**, Т.Г. Маркова, С.С. Чибисова [и др.] // Материалы 9-го Национального конгресса аудиологов и 13-го Международного симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – 2021. – С. 88–89; 2 с./0,22 с.

18. Тугоухость при мутациях белков стереоцилина и ушерина / Т.Г. Маркова, **Н.Н. Алексеева**, О.А. Белов [и др.] // Материалы 9-го Национального конгресса аудиологов и 13-го Международного симпозиума «Современные проблемы физиологии и патологии слуха». – 2021. – С. 156–157; 2 с./0,22 с.

19. Нарушение слуха при мутациях в генах, ответственных за синдром Ашера / Т.Г. Маркова, **Н.Н. Алексеева**, О.А. Белов [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2022. – Т. 87, № 1. – С. 52–59; 8 с./1,6 с. ИФ – 0,766.

20. Early audiological phenotype in patients with mutations in the *USH2A* gene / Т.Г. Markova, M.R. Lalayants, N.N. Alekseeva [et al.] // **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. – 2022. – Vol. 157. – P. 111140; 10 с./0,83 с.**

21. Результаты аудиологического обследования пациентов с наследственной тугоухостью легкой и умеренной степени / **Н.Н. Алексеева**, Т.Г. Маркова, С.С. Чибисова [и др.] // Материалы научно-практической конференции «Инновационные технологии в диагностике нарушений слуха и реабилитации больных с тугоухостью и глухотой». – 2022. – С. 7–8; 2 с./0,33 с.

22. Mild-to-moderate hearing loss caused by *STRC* gene mutations in Russia / Т.Г. Markova, **N.N. Alekseeva**, O.L. Mironovich [et al.] // XXXV World Congress of Audiology. – Warsaw, Poland, 10–13 April 2022. Journal of Hearing Science. – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 104–105; 2 с./0,28 с.

23. Epidemiology of the hereditary sensorineural hearing loss in Russia / Т. Markova, O. Mironovich, M. Lalayants, **N. Alexeeva** // HeAL 2022 — HEaring Across the Lifespan Conference. – Cernobbio, Como Lake, Italy 16–18 June 2022. Abstract Book. – P. 26; 1 с./0,125 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИМ – инактивирующая мутация

МПС – массовое параллельное секвенирование

СНТ – сенсоневральная тугоухость

ТПА – тональная пороговая аудиометрия

GJB2 – ген, кодирующий белок коннексин 26

STRC - ген, кодирующий белок стереоцилин

USH2A - ген, кодирующий белок ашерин