

HIPOACUZIILE NEUROSENZORIALE NON-SINDROMICE CONGENITALE ȘI LEGĂTURA LOR CU CONEXINA 26

Hipoacuziile neurosenzoriale non-sindromice congenitale și legătura lor cu conexina 26

Dr. Alexandra Neagu, Prof. Dr. T. Ataman
IFACF-ORL „Prof. Dr. D.Hociotă”, București

REZUMAT

Autorii prezintă o problemă importantă privind hipoacuziile neurosenzoriale congenitale și primul studiu legat de conexina 26, efectuat în România, pe un lot semnificativ de pacienți. Sunt prezentate rezultatele obținute în urma acestui studiu și corelarea aspectelor genetice cu cele clinice. De asemenea, sunt comparate rezultatele obținute la noi cu cele obținute în urma efectuării unor studii similare în țările din Vestul Europei.

Cuvinte cheie: hipoacuzie neurosenzorială congenitală, conexina 26, GJB2, 35delG

ABSTRACT

The authors present an important issue regarding congenital sensorineural hearing loss and the first study on connexin 26 performed in Romania, on a significant number of patients. We present the results from this study and the genetic correlation with the clinical aspects. Also, we compare the our results with the results obtained in several studies performed in Western Europe countries.

Key words: sensorineural hearing loss, connexin 26, GJB2, 35delG

Hipoacuzia reprezintă, din ce în ce mai mult, o problemă de sănătate publică, deoarece este cel mai frecvent defect senzorial, având o incidență de 1,3-2,3 cazuri la 1.000 de copii.

Depistarea hipoacuziei, încă de la naștere, este foarte importantă, deoarece o intervenție precoce înseamnă o recuperare foarte bună și o șansă sporită de integrare socială a individului respectiv.

Dintre hipoacuziile apărute în copilărie, 50% sunt atribuite factorilor genetici, 20-25% factorilor de mediu, iar 25-30% sunt de cauză necunoscută.

Genomul uman este format din 46 de cromozomi, 22 de perechi de cromozomi autosomi

și 2 cromozomi sexuali, XY – la bărbați și XX – la femei. În plus, există informație genetică și în ADN-ul mitocondrial, care se pare că se moștenește, în cea mai mare parte, de la mamă.

Transmiterea oricărui defect genetic se poate face legat de unul din cromozomii autosomi, de unul din cromozomii sexuali sau de ADN-ul mitocondrial.

După modul de transmitere, hipoacuziile genetice au fost clasificate (Smith & Van Camp, 2007) astfel:

- hipoacuzii cu transmitere autosomal dominantă – 18-20%
- hipoacuzii cu transmitere autosomal recesivă – 75-80%

Adresă de corespondență:

Dr. Alexandra Neagu, IFACF-ORL „Prof. Dr. D.Hociotă”, Str. Mihail Cioranu Nr. 21, București

- hipoacuzii cu transmitere X-linkată – 2%
- hipoacuzii cu transmitere prin ADN-ul mitocondrial – 1%.

După momentul instalării, hipoacuziile pot fi: prelinguale (înainte de apariția limbajului) sau postlinguale (după apariția limbajului).

În majoritatea cazurilor, hipoacuzia nu se însoțește de afectarea altor organe și sisteme, fiind non-sindromică.

Până acum au fost identificate 35 de gene ale hipoacuziei și peste 70 de locusuri (7).

Transmiterea autosomal recesivă ocupă, de departe, primul loc. Deși există o heterogenitate foarte mare, mai mult de jumătate din hipoacuziile non-sindromice cu transmitere autosomal recesivă pot fi atribuite mutațiilor genei GJB2, genă ce se găsește pe cromozomul 13q11. Deși sunt descrise mai multe mutații ale acestei gene, la populația europeană 35delG este mutația cel mai frecvent întâlnită.

După Gasparini și col., 2000 (9), frecvența mutației 35delG în rândul purtătorilor sănătoși în populația Europei este de 1:34.

Gena GJB2 codifică o proteină, numită conexina 26. Conexina 26 este o proteină de joncțiune (gap junction) care se găsește pe celulele suport și fibrocitele ductului cohlear, fiind implicată în reciclarea ionilor de potasiu din celulele ciliate spre endolimfă. Această proteină este hexamerică, alcătuită din 6 monomeri, care se asamblează și formează un conaxon localizat pe membrana celulară. Conaxonii celulelor învecinate se unesc între ei, formând un canal prin care se realizează transportul intercelular al ionilor și al metaboliților de mici dimensiuni (7).

Diferitele mutații ale genei GJB2 duc la o asamblare anormală a conaxonilor, care nu mai formează un canal, ducând la imposibilitatea transportului ionilor de potasiu dinspre celulele ciliate spre endolimfă, acest lucru având ca urmare hipoacuzia. Hipoacuzia este întotdeauna neurosenzorială, afectează toate frecvențele și gradul acesteia variază de la moderată la profundă.

METODA

Ne-am propus studierea prezenței mutației 35delG în rândul copiilor cu hipoacuzie neurosenzorială non-sindromică congenitală (prelinguală) și corelarea acesteia cu caracteristicile hipoacuziei.

Pentru aceasta, am selectat copii cu hipoacuzie neurosenzorială non-sindromică prelinguală (diagnosticați cu hipoacuzie înainte de apariția limbajului) care îndeplineau următoarele criterii:

- copiii nu prezentau altă problemă de sănătate în afara hipoacuziei (hipoacuzie non-sindromică)
- copiii proveneau din familii fără antecedente de hipoacuzie, condiția de bază fiind ca părinții să fie normal auzitori, având în vedere că această mutație are transmitere autosomal recesivă
- gradul hipoacuziei să varieze între moderată și profundă (nu s-au luat în studiu copii cu hipoacuzii ușoare, deoarece din studiile efectuate în străinătate s-a dovedit că mutația 35delG nu este responsabilă de aceste hipoacuzii).

În perioada octombrie 2007 – iunie 2009, s-au luat în studiu 84 de copii cu vârste între 1 și 16 ani, toți diagnosticați cu hipoacuzie neurosenzorială bilaterală non-sindromică prelinguală. De la fiecare copil s-au recoltat 6 ml de sânge venos, din care s-a izolat ADN-ul. Pe extractul de ADN s-a cercetat prezența mutației 35delG pentru conexina 26.

Rezultate posibile în urma analizei efectuate sunt următoarele:

- wt/wt (wt=wild type) – genotip normal
- 35delG/wt – heterozigot
- 35delG/35delG – homozigot.

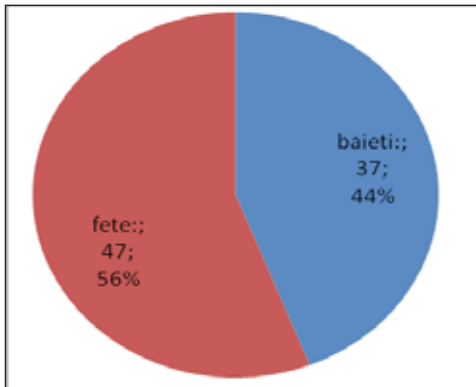
Rezultatul homozigot, de forma 35delG/35delG, semnifică prezența mutației pe ambele gene și deci rezultă că, la acești copii, **aceasta este cauza hipoacuziei.**

Rezultatul heterozigot, de forma 35delG/wt, ar trebui să fie doar prima etapă pentru diagnosticul genetic, deoarece mutația 35delG se poate asocia și cu alte mutații mai rare ale genei GJB2 (pentru conexina 26) sau cu alte mutații ale genei GJB6 (conexina 30 codifică această genă) – transmitere digenică și astfel ar putea fi cauza hipoacuziei. Pentru aceasta însă ar fi nevoie de analize suplimentare și deci ar implica și costuri suplimentare.

Rezultatul wt/wt – normal, arată doar că nu aceasta este cauza hipoacuziei, dar există și alte cauze genetice pe care nu ne-am propus să le determinăm în acest studiu.

REZULTATE

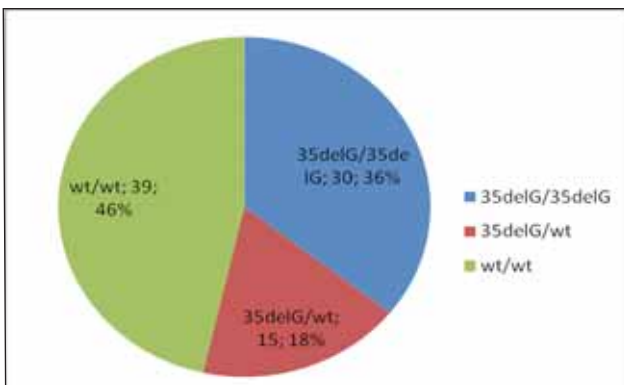
Pe lotul studiat, repartiția pe sexe a pacienților a fost următoarea: din 84 de copii, 47 au fost fete și 37 băieți.



Vârsta medie a copiilor a fost de 6 ani. Repartiția pe grupe de vârstă în lotul studiat a fost următoarea:

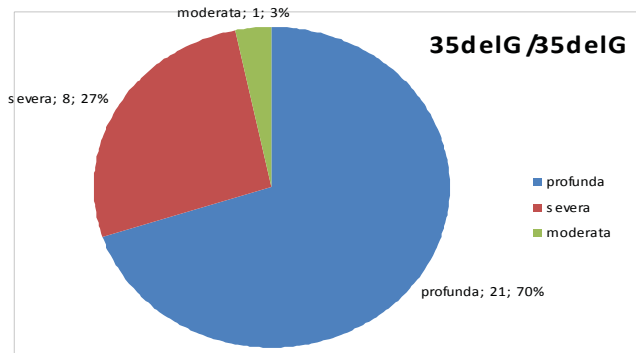
- 2-5 ani – 33 copii
- 5-10 ani – 41 copii
- 10-16 ani – 10 copii

Frecvența de apariție a homozigoților (35delG/35delG) în lotul studiat a fost de 36%, cea a heterozigoților (35delG/wt) a fost de 18%, iar a celor fără mutație a fost de 46%.



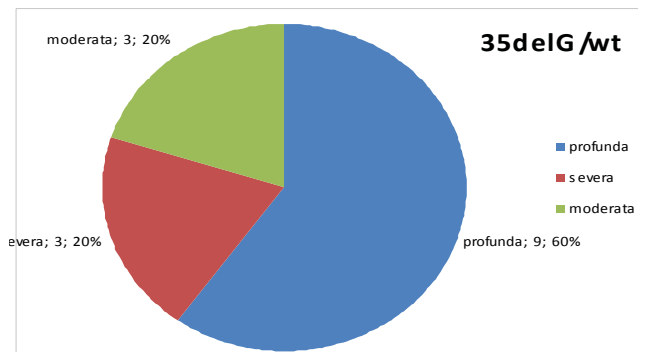
Dintre copiii care prezentau mutația pe ambele gene – 35delG/35delG (homozigoți):

- 70% erau cu hipoacuzie neurosenzorială profundă
- 27% cu hipoacuzie neurosenzorială severă
- 3% cu hipoacuzie neurosenzorială moderată



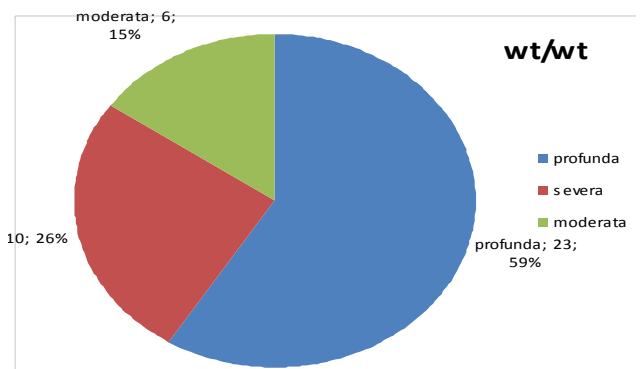
Dintre copiii care prezentau mutația pe o singură genă 35delG/wt (heterozigoți):

- 60% erau cu hipoacuzie neurosenzorială profundă
- 20% cu hipoacuzie neurosenzorială severă
- 20% cu hipoacuzie neurosenzorială moderată



Dintre copiii care nu prezentau mutația 35delG:

- 59% erau cu hipoacuzie neurosenzorială profundă
- 26% cu hipoacuzie neurosenzorială severă
- 15% cu hipoacuzie neurosenzorială moderată



CONCLUZII

Frecvența de apariție a homozigoților (35delG/35delG) în lotul studiat a fost de 36%; în cazul acestor copii se poate spune cu certitudine că aceasta este cauza hipoacuziei, deși mulți dintre ei prezentau și alți factori de risc asociați pentru hipoacuzie cum ar fi: prematuritatea, hipoxia perinatală, incompatibilitatea materno-fetală de Rh, icterul neonatal prelungit sau tratamente cu aminoglicozide în primele luni după naștere.

Pentru copiii heterozigoți pentru mutația 35delG (reprezentând 18% în lotul studiat) ar trebui continuate investigațiile genetice, în sensul căutării tuturor mutațiilor pentru conexina 26 (chiar dacă acestea sunt mult mai rare decât mutația 35delG), deoarece se știe cu certitudine că asocierea acestei mutații cu una non-35delG pentru conexina 26 sau cu o mutație pentru conexina 30 (transmitere digenică) pot fi răspunzătoare de apariția hipoacuziei.

Pentru copiii care la screeningul pentru 35delG au ieșit de forma wt/wt, singurul lucru care se poate spune este că nu aceasta este cauza hipoacuziei, neputându-se exclude alte cauze genetice, deoarece nu au reprezentat obiectul acestui studiu.

În cadrul lotului de copii care prezintă mutația 35delG pe ambele gene (homozigoți), se poate observa că hipoacuzia este profundă în 70% din cazuri, severă în 27% din cazuri și doar în 3% din cazuri este moderată (1 singur copil fiind în această situație). Pornind de la aceste date, înseamnă că în rândul homozigoților, 97% dintre ei au hipoacuzie neurosenzorială severă sau profundă, date ce se corelează cu datele din literatura de specialitate.

Unul dintre cele mai relevante studii în acest sens, este un studiu multicentric efectuat de Cryns și col. în 2003 (7) în Belgia, Olanda, Italia, Spania și SUA, care a încercat să facă o corelație între genotip și fenotip, adică între mutațiile genei GJB2 și caracteristicile hipoacuziei la pacienții la care au fost găsite aceste mutații. Studiul a arătat că hipoacuzia cea mai accentuată (severă sau profundă) a fost întâlnită la pacienții

care erau homozigoți pentru mutația 35delG. Tot din acest studiu a reieșit că pacienții heterozigoți (cei care au doar pe o genă mutația 35delG, iar pe cealaltă genă o altă mutație) sau pacienții care prezintă ambele mutații de tipul non35delG prezintă un grad mai mic de hipoacuzie (ușoară sau moderată).

Fiind primul studiu legat de prezența mutației 35delG realizat în România, ne-am propus să corelăm datele obținute de noi cu cele obținute în vestul Europei și rezultatele pe care le deținem până în acest moment ne îndreptățesc să credem că și în România aceasta este cauza cea mai frecventă a hipoacuziilor neurosenzoriale non-sindromice congenitale.

Ar mai fi de menționat faptul că, deși s-a observat că hipoacuzia dată de mutațiile genei GJB2 pentru conexina 26 dau o hipoacuzie neurosenzorială care afectează toate frecvențele și este în general stabilă, avem în cadrul celor 30 de copii homozigoți, 2 copii la care hipoacuzia s-a accentuat în timp (a fost progresivă), fără ca aceasta să poată fi legată în vreun fel de o altă cauză (infecție virală, tratamente cu ototoxice etc.).

Concluzia cea mai importantă a acestui prim studiu este aceea că, dată fiind frecvența foarte mare de apariție a acestei mutații, această analiză genetică ar trebui să intre în bateria de teste uzuale pentru orice copil hipoacuzic (așa cum se face în țările din vestul Europei) și care, asociată cu screeningul auzului la nou-născut, ar putea duce la o depistare precoce a deficitului de auz și la o intervenție terapeutică rapidă.

Sfatul genetic pentru familiile în care apar acești copii este foarte important și ar trebui să fie făcut în mod organizat și de către un personal specializat.

Mulțumiri D-lui Prof. Guy Van Camp de la Universitatea din Antwerp – Centrul de Genetică Medicală, Belgia, fără sprijinul căruia, acest studiu genetic nu s-ar fi putut face și D-nelor Carmen Diaconu și Denisa Dragu de la Institutul de Virusologie „Șt. Nicolau” București pentru realizarea extractului de ADN.

BIBLIOGRAFIE

1. **Ataman T. și col.** – Audiologie clinică, Editura SITECH 2009
2. **Ataman T. și col.** – Otologie, Editura Tehnica 2002
3. **Ballenger et al** – eds(2002) Otorhinolaryngology – Head and Neck Surgery
4. **Byron Bailey, Calhoun K., Friedman N** – eds (2001) Head and Neck Surgery – *Otolaryngology*, 3rd edition
5. **Cohn ES, Kelley PM, Fowler TW, Gorga MP, Lekowitz DM, Kuehn HJ, Shafer GB, Gobar LS; Hahn FJ, Harris DJ, Kimberling WJ** – Clinical studies of families with hearing loss attributable to mutations in the connexin 26 gene (GJB2/DFNB1), *Pediatrics* 1999; 103: 546-50.
6. **Cordes S, Friedman N** – (2000) Genetic hearing loss
7. **Cryns K, Orzan E, Murgia A, Huygen PLM, Moreno F, del Castillo I, Parker Chamberlin G, Azaiez H, Prasad S, Cucci RA, Leonardi E, Snoeckx RL, Govaerts PJ, Van de Heyning PH, Van de Heyning CM, Smith RJH, Van Camp G** – A genotype-phenotype correlation for GJB2 (connexin26) deafness, *Journal of Medical Genetics* 2004; 41:147-154.
8. **Gasparini P, Estivill X, Volpini V, Totaro A, Castellvi-Bel S, Govea N, Mila M, Della Monica M, Ventruto V, De Benedetto M, Stanziale P, Yelante L, Mansfield ES, Sandkrujil L, Surrez S, Fortina P** – Linkage of DFNB1 to non-syndromic neurosensory autosomal-recessive deafness in Mediterranean families, *Eur J Hum Gen* 1997; 5:83-8
9. **Gasparini P, Rabionet R, Barbuiani G, Melchionda S, Petersen M, Petersen M, Brondum-Nielsen K, Metspalu A, Oitmaa E, Pisano M, Fortina P, Zelante L, Estivill X** – Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in European populations. *Eur J Hum Gen* 2000; 8:19-23
10. **Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM** – eds (1995) Hereditary hearing loss and its syndromes. *Oxford University Press*
11. **Han SH, Park HJ, Kang EJ, Ryu JS, Lee A, Yang YH, Lee KR** – Carrier frequency of GJB2 (connexin-26) mutations causing inherited deafness in the Korean population, *J Hum Genet* (2008) 53:1022-1028.
12. **Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, Mueller RF, Leigh IM** – Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness, *Nature* 387, 80-83 (01 May 1997)
13. **Kitamura K, Steel KP** – eds (2000) Genetics in otorhinolaryngology
14. **Konigsmark BW, Gorlin RJ. Editors** – Genetic and metabolic deafness, Philadelphia, 1976
15. **Morell RJ, Kim HJ, Hood L, Goforth L, Friderici K, Fisher R, Van Camp G, Berlin C, Oddoux C, Ostrer H, Keats B, Friedman T, San Agustin T, Dumon J** – Mutations in the Connexin 26 Gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with Non Syndromic Recessive Deafness, *The New England Journal of Medicine*, vol.339:1500-1505, 19 Nov.1998
16. **Ortolano S, Di Pasquale G, Crispino G, Anselmi F, Mammano F, Chiorini JA** – Coordinated control of connexin 26 and connexin 30 at the regulatory and functional level in the inner ear, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008 Dec.2; 105(48):18776-81.
17. **Van Camp G and Smith RJH** – (2008) Hereditary Hearing Loss Homepage <http://webh01.ua.ac.be/hhh/>
18. **Van Camp G, Smith RJH** – (2007) Deafness and hereditary hearing loss overview
19. **Van Laer L, Coucke P, Mueller G, Caethoven G, Flothmann K, Prasad SD, Chamberlin GP, Houseman M, Taylor GR, Van de Heyning CM, Fransen E, Rowland J, Cucci RA, Smith RJH and Van Camp G** – A common founder for the 35delG GJB2 gene mutation in connexin 26 hearing impairment, *J.Med.Genet.* 2001;38:515-5
20. **Vedat Topsakal** – Genetic deafness – A clinical audiological approach, *Universiteit Antwerpen*, 2006
21. **Victoria A. Stevenson, Masamichi Ito, Jeff M. Milunsky** – Genetic testing. June 2003, 7(2): 151-154