

Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinički bolnički centar Rijeka

KLINIČKI I GENETIČKI PROBIR NA PRIROĐENU GLUHOĆU

CLINICAL AND GENETIC SCREENING OF CONGENITAL DEAFNESS

Sanja Zaputović

Pregled

Ključne riječi: novorođenče, gluhoća, otoakustička emisija, geni, mutacija, novorođenački probir

SAŽETAK. Pojavnost prirođenog oštećenja sluha je najmanje 1/1000 novorođene djece. Oko polovice oštećenja sluha je nasljedno, od čega se trećina javlja u sklopu različitih sindroma (sindromska gluhoća), a u dvije trećine slučajeva gluhoća je jedini simptom (nesindromska gluhoća). Smatra se da oko 200 različitih gena uzrokuje pojedine oblike nasljedne gluhoće. Razvoj molekularne genetike omogućio je značajan napredak u detekciji i lokalizaciji ovih gena. Mutacije gena koji kodira sintezu koneksina-26 uzrokuju više od polovice svih slučajeva nasljedne gluhoće. Guilford je 1994. prvi opisao autosomno recesivnu nesindromsku gluhoću u lokusu DFNB1 13q11-q12 na 13. kromosomu. U unutarnjem uhu koneksin-26 ima ulogu u recikliranju kalijevih iona od baze dlakavih stanica, preko potpornih stanica i fibroblasta do strije vaskularis, odakle se dalje posebnim kanalima izbacuju u endolimfu. Na tom putu kalijevi ioni prolaze kroz zjapne veze koje izgrađuju koneksin-26, koneksin-30 i koneksin-31. Mutacija u bilo kojem od gena koji kodiraju koneksine mijenja ionski sastav osjetnih stanica i rezultira nastankom gluhoće. Novorođenački probir na oštećenje sluha počeo se razvijati prije četrdesetak godina. Audiološkim probirom metodom evocirane otoakustičke emisije (E-OAE) nastoji se otkriti što više djece s oštećenim sluhom. Djeca u koje se ovom metodom postavi sumnja na oštećenje sluha, upućuju se na automatsko bilježenje evociranih potencijala moždanog debla. U djece s pozitivnim audiološkim nalazom, molekularno-genetsko testiranje danas je moguće za veliki broj gena, ali zbog velike prevalencije mutacija u koneksinskim genima, samo takvo testiranje je šire prihvaćeno. Kombinacija audiološke i molekularno-genetske analize pokazala se komplementarnom, korisnom i praktički primjenjivom.

Review

Key words: newborn, deafness, otoacoustic emission, genes, mutation, neonatal screening

SUMMARY. The incidence of congenital hearing impairment is at least 1/1000 newborns. Approximately one half of hearing impairments is hereditary, out of which one third occurs as part of different syndromes (syndromic deafness), and in two thirds of these cases deafness is the only symptom (non-syndromic deafness). It is considered that around 200 different genes cause various forms of hereditary deafness. The development of molecular genetics has enabled significant progress in the detection and localization of these genes. Mutations of the gene that encodes the connexin-26 synthesis cause more than half of all hereditary deafness cases. In 1994, Guilford first described autosomal recessive non-syndromic deafness in locus DFNB1 13q11-q12 on the 13th chromosome. In the inner ear, connexin-26 plays a role in the recycling of potassium ions from hairy cells base, through supporting cells and fibroblasts to stria vascularis, from where they are then discharged into endolymph via special channels. On its way, potassium ions pass through gap junctions composed of connexin-26, connexin-30 and connexin-31. Mutation in any of the genes that encode connexins alters the ionic composition of sensory cells and results in the development of deafness. Newborn hearing impairment screening started developing some 40 years ago. Audiologic screening by evoked otoacoustic emission method (E-OAE) aims at detecting as many children as possible with hearing impairment. Children who after using this method are suspected of having hearing impairment are then referred for automated auditory brainstem response. In children with positive audiologic findings, molecular-genetic testing is today possible for a large number of genes, however, due to the significant prevalence of mutations in the connexin genes, only such a testing is more widely accepted. Combination of audiologic and molecular-genetic analysis has proven to be complementary, useful and applicable in practice.

Uvod

Oštećenje sluha je najčešći senzorni poremećaj. Rano, prirođeno oštećenje sluha nepovoljno djeluje na razvoj govora i spoznajnih procesa, a ukoliko nastupi u odrasloj dobi može značajno utjecati na rad i društvenu prilagodbu.¹ Dječja audiologija ima osobit značaj u ranom prepoznavanju naglušosti ili gluhoće, jer zakašnjela rehabilitacija sluha uzrokuje zastoje govora i poteškoće u komunikaciji.²

Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije iz 2001. godine, u svijetu je bilo 250 milijuna ljudi s

oštećenim sluhom. Prevalencija raste s dobi pa se procjenjuje da oko polovice starijih od 80 godina ima oštećen sluh. Stoga je slušno oštećenje prepoznato kao važan javnozdravstveni problem kojem treba usmjeriti napore za adekvatnu dijagnostiku i prevenciju.

Epidemiologija i etiologija oštećenja sluha

Pojavnost prirođenog oštećenja sluha je najmanje 1/1000 novorođene djece, a čak 1/300 ima određeni stupanj naglušosti.³ Učestalost prirođenog oštećenja sluha, kao i činjenica da intervencija prije šestog mjeseca živo-

ta značajno poboljšava adaptaciju osoba oštećenog sluha, razlog su poticanja što ranije i preciznije dijagnostike.⁴

S obzirom na složenost građe slušnog aparata i sveukupan mehanizam procesa slušanja etiologija oštećenja sluha je heterogena.⁵ Ovisno o načinu provođenja zvuka oštećenje sluha dijelimo na senzoričkoneuralno, konduktivno ili miješano, prema frekvencijskom području na nisko (manje od 500 Hz), srednje (500–2000 Hz) ili visokofrekvencijsko (više od 2000 Hz), a prema težini na blago (21–40 dB), umjereno (41–60 dB), umjereno teško (61–80dB), teško (81–100 dB) i duboko (više od 100 dB).

Prema nastanku oštećenje sluha se dijeli na prirodenu ili stečeno.⁶ Stečeno oštećenje sluha obično nastaje kao posljedica prenatalno preboljele citomegalovirusne infekcije, toksoplazmoze, sifilisa, rubeole ili infekcije herpes simpleks virusom.⁷ Prijevremeno rođena, kao i ostala rizična djeca posebno su izložena rizicima za nastanak slušnog oštećenja. Prematuritet, niska porodna težina, hipoksija, hiperbilirubinemija, poteškoće disanja koje zahtijevaju mehaničku ventilaciju, čimbenici su rizika koji ukazuju na potrebu detaljnijeg istraživanja i praćenja razvoja sluha tijekom prvih godina života.⁸ Oštećenje sluha može biti izazvano i ototoksičnim lijekovima. Aminoglikozidi mogu izazvati gubitak sluha za visoke frekvencije, a mogu biti i vestibulotoksični, naročito kada se primjenjuju u kombinaciji s furosemidom, često korištenim lijekom u jedinicama novorođenačke intenzivne njege. U skupini ototoksičnih lijekova naročito se spominju cisplatin i karboplatin koji uzrokuju obostrano oštećenje sluha za visoke frekvencije.⁹ Postnatalno slušno oštećenje može se javiti kao posljedica bakterijskog meningitisa, traume ili jakih zvučnih podražaja.¹⁰

Kod *nasljedne* gluhoće, genska promjena može uzrokovati poremećen razvoj stanica unutarnjeg uha ili dovesti do progresivne degeneracije normalno nastalih struktura unutarnjeg uha.¹¹ Genetski uzrokovana gluhoća se uglavnom opisuje s obzirom na način nasljeđivanja, audiološke osobine, vrijeme nastupa, progresivnost ili stacionarnost gubitka sluha i pridruženo vestibularno oštećenje. Nasljedno oštećenje sluha može biti progresivno ili neprogresivno, jednostrano ili obostrano, promjenjivog intenziteta i audiometrijske krivulje, sindromsko ili nesindromsko.¹¹ Sve spomenute mogućnosti važne su u obradi djeteta u kojega se sumnja na moguću nasljednu gluhoću.

Oko polovice oštećenja sluha je nasljedno, od čega se trećina javlja u sklopu različitih sindroma (*sindromska gluhoća*), a u dvije trećine slučajeva gluhoća je jedini simptom (*nesindromska gluhoća*).^{6,12} U osoba s kromosomskim aberacijama često se uz ostale simptome nađe i oštećenje sluha. Oko polovice djece s Downovim sindromom ima prirodenu ili stečeno, pretežno provodno oštećenje sluha.¹³ Nesindromska gluhoća se u oko 80% slučajeva nasljeđuje autosomno recesivno, u oko 18% autosomno dominantno, a oko 2% pripada X-vezanom i mitohondrijskom načinu nasljeđivanja. Autosomno re-

cesivni oblici gluhoće obično su teži i prelingvalni. Autosomno dominantni oblici su blaži, postlingvalni i progresivni.¹² Smatra se da oko 200 različitih gena uzrokuje pojedine oblike nasljedne gluhoće.^{5,9} Razvoj molekularne genetike omogućio je značajan napredak u detekciji i lokalizaciji ovih gena.¹¹

Molekularno-genetski aspekti oštećenja sluha

Genetska baza audio-vestibularnog sustava je složena. Uho je jedan od najkompleksnijih organa u tijelu i iako se o njemu mnogo zna, još uvijek se u potpunosti ne razumije kako u cijelosti funkcionira.¹⁴ Na polju istraživanja sluha znanstvenike zanima koliko je gena uključeno u formiranje i rast unutarnjeg uha i kako ti geni surađuju u stvaranju auditivne sposobnosti. Nastoji se otkriti specifične proteine koje kodiraju odgovarajući geni, odgovorni za formaciju unutarnjeg uha i njegovo pravilno funkcioniranje.^{14,15}

Otkrivanje gena i mutacija uključenih u nastanak slušnog oštećenja brzo napreduje. Ti su geni odgovorni za nastanak i funkciju ionskih kanala, zjapnih veza, građu staničnog kostura i izvanstaničnog matriksa, a neki reguliraju prepisivanje drugih bjelančevina koje imaju značajnu ulogu u razvoju slušnog aparata. Otkriveni su i modificirajući geni koji su nam pružili opširniji uvid u molekulske mehanizme procesa slušanja i slušnog oštećenja.^{14,15} Geni koji sudjeluju u oštećenju sluha mogu se podijeliti u šest osnovnih skupina:

1. Geni koji sudjeluju u homeostazi iona;
2. Geni koji kodiraju bjelančevine staničnog kostura;
3. Geni koji kodiraju bjelančevine izvanstaničnog matriksa;
4. Geni koji reguliraju čimbenike transkripcije;
5. Mitohondrijski geni;
6. Modificirajući geni.

Mutacije gena za koneksin 26

Koneksini su skupina povezanih gena koji kodiraju podjedinice proteina potrebnih za formiranje submikroskopskih kanala, nazvanih pukotinska spojišta, odnosno zjapne veze (gap junctions), koje omogućuju da ioni i male molekule slobodno teku između susjednih stanica. Najčešća je mutacija koneksina-26 u lokusu DFNB1 (DFNB je kratica koja označava autosomno recesivnu nesindromsku gluhoću). Osim mutacije u ovom genu nađeni su i drugi geni: koneksin-30 (engl. »Gap Junction Protein B«, GJB3), koneksin-31 (GJB6) i koneksin-43 (GJA1), koji sudjeluju u građi zjapnih veza. Mutacije u GJB3 i GJB6 također mogu uzrokovati nagluhost smanjenjem endokohlearnog potencijala i apoptozom osjetnog epitela, koji nastaje kao rezultat izvanstaničnog nakupljanja kalijevih iona oko dlakavih stanica i depolarizacije stanične membrane.¹⁶

Utvrđeno je da su mutacije u lokusu DFNB1 (13q12) uzrok polovice svih autosomno recesivno nasljednih ne-

sindromskih gluhoća.¹⁷ Mutacije u genu GJB2 za koneksin-26 su najčešće, dosad ih je opisano oko stotinjak, a pokazuju različitu regionalnu i etničku raspodjelu.¹⁷ S obzirom na veliki broj gena koji mogu uzrokovati gluhoću, otkriće da genetske promjene koje uključuju jedan jedini gen koji kodira sintezu koneksina-26 uzrokuje više od polovice svih slučajeva nasljedne gluhoće, pobudilo je veliki interes.^{18,19} Guilford je 1994. prvi opisao autosomno recesivnu nesindromsku gluhoću u lokusu DFNB1 13q11-q12 na 13. kromosomu.²⁰ Nedugo nakon toga DFNB1 gen je identificiran kao Gap Junction Protein B – GJB2.²¹ Gen DFNB1 kodira bjelančevinu koneksin-26, sastavni dio zjapnih veza. Zjapna veza se kao međustanični kanal sastoji od dva koneksiona, a svaki od njih od šest podjedinica, koneksina. U sisavaca koneksine kodira oko 13 visoko konzerviranih gena. Prema slijedu aminokiselina, nukleotida i molekularnoj masi razlikujemo α (GJA), β (GJB) i γ (GJC) koneksine. Koneksin-26 ima ulogu u recikliranju kalijevih iona od baze dlakavih stanica, preko potpornih stanica i fibroblasta do strije vaskularis, odakle se dalje posebnim kanalima izbacuju u endolimfu. Na tom putu kalijevi ioni prolaze kroz zjapne veze koje izgrađuju koneksin-26, koneksin-30 i koneksin-31.

Mutacija u bilo kojem od gena koji kodiraju koneksine mijenja ionski sastav osjetnih stanica i rezultira nastankom gluhoće.²¹ Dugo se smatralo da je mutacija 35delG *hot spot* mutacija vjerovatno podržana Chi konsenzus motivom GCTG-GTGG od nukleotida 50 do 57 ili sekvencom TGGGG od nukleotida 29 do 33: oba motiva su već utvrđena kao *hot spot* mutacije u drugim genima.^{21,22} Mutacije u genu za koneksin-26 dovode do poremećaja komunikacije između stanica putem zjapnih veza, dovodeći do poremećaja oblikovanja kanala. Većina mutacija je smještena u unutarstaničnoj i izvanstaničnim petljama. Postoje tri skupine mutacija. Prva utječe na prikupljanje bjelančevina, druga na prijenos i ugradnju bjelančevina u membranu, a treća stvara naizgled normalne koneksine koji su ugrađeni u membranu, ali ne mogu obavljati svoju funkciju staničnog povezivanja.²² Najčešća recesivna mutacija je delecija gvanina na položaju 35 (35delG), koju su prvi put opisali Zelante i suradnici u europskoj populaciji Mediterana.¹⁷ Novija istraživanja navode tešku naglušnost ili potpunu gluhoću u oko 92% 35delG homozigota. Uz tu mutaciju, otkriven je još i veći broj drugih mutacija u genu, ali bez većeg kliničkog i epidemiološkog značenja.²³ Teža klinička slika javlja se kod inaktivirajućih mutacija u kojima dolazi do pomaka tripleta baza ili STOP kodona, koji završavaju prijepis i stvaraju nepotpunu molekulu u odnosu na neaktivirajuće mutacije.²³

Populacijska genetika mutacije 35delG/GJB2

Nakon identifikacije gena, uslijedilo je utvrđivanje učestalosti njegovih mutacija u raznim etničkim i nacionalnim studijama – studijama mediteranskih naroda, odnosno istraživanja osoba oslabljenog sluha talijanskog, španjolskog, portugalskog, francuskog, ali i alžirskog,

tuniskog i libanonskog podrijetla, studije gluhih osoba iz Sjeverne Amerike i Japana.^{24–26} U svim tim studijama nađeno je da je mutacija 35delG u homozigotnom statusu najčešći uzrok gluhoće. Učestalost nositelja ove mutacije posebno je visoka u južnoj Europi, o čemu govore brojne nacionalne studije mediteranskih naroda. Najčešća frekvencija mutacije je u Grčkoj (3,5%) i Italiji (3,1%). U Grčkoj je frekvencija nositelja mutacije veća i od delta F508 mutacije transmembranskog regulatornog gena (CFTR) u cističnoj fibrozi.²⁴ Visoki postotak ove mutacije u Europi ukazuje na potrebu ispitivanja učestalosti ove mutacije i u Hrvatskoj.

Rana dijagnostika prirođenog oštećenja sluha

Dijagnostičke metode u procjeni prirođenog oštećenja sluha prikazane su u tablici 1.²⁷ *Audiološko testiranje*. Elektrofiziološke pretrage koje ne zahtijevaju bolesnikovu suradnju te mogu biti provedene u dojenčadi, uključuju utvrđivanje slušnog odgovora mozga (slušni evocirani potencijali) i otoakustičku emisiju. Slušni evocirani potencijali su temelj objektivne audiometrije u dojenčadi i male djece. Pomoću slušnih evociranih potencijala moguće je utvrditi normalni sluh ili konduktivno oštećenje sluha.²⁸ U prirođenoj gluhoći važno mjesto u dijagnostičkom postupku ima *genetsko savjetovanje*. Na osnovi rezultata osnovnih dijagnostičkih pretraga i sumnje na određeni poremećaj, klinički genetičar može savjetovati citogenetičko i molekularno testiranje, koje je danas moguće za veliki broj gena. Zbog velike preva-

Tablica 1. Dijagnostičke metode u procjeni prirođenog oštećenja sluha²⁷
Table 1. Diagnostic methods in the evaluation of congenital hearing impairment²⁷

1. Obiteljsko stablo (tri generacije)
2. Osobna anamneza (prenatalna, perinatalna i postnatalna, početak simptoma, druge bolesti – sinkopa, epilepsija, iznenadna smrt, bubrežne smetnje, smetnje vida)
3. Klinički pregled (dismorfija, pigmentacija, pregled štitnjače, neurološki status itd.)
4. Audiološko ispitivanje sluha djeteta (i članova obitelji)
5. Ispitivanje vestibularne funkcije
6. Okulistički pregled – pigmentna retinopatija (ERG), kongenitalne infekcije
7. Laboratorijske pretrage (KKS, elektroliti, urin, pretrage na konatalne infekcije, hormoni štitnjače autoprotutijela, imunoglobulini, C3, C4, metabolički »screening«, citogenetičke i genske analize)
8. EKG (produljen QT interval)
9. Slikovne pretrage
 - a) Kompjutorizirana tomografija/magnetska rezonancija temporalne kosti (progresivna gluhoća i kraniofacijalne anomalije)
 - anomalije polukružnih kanala (nedostatak, displazija – sindrom CHARGE)
 - unutrašnji zvukovod
 - suženje – aplazija 8. živca
 - dilatacija – X-vezana miješana gluhoća (DFN3)
 - akustični neuromi (NF2)
 - labirintitis ossificans
 - b) Magnetska rezonancija – suženje unutrašnjeg zvukovoda (DFN3), retrokohlarna patologija
 - c) Ultrazvuk bubrega, mozga

lencije mutacija u koneksinskim genima GJB2 i GJB6, u dijagnostici slušnog oštećenja njihovo se testiranje prvo provodi. Oko 98% osoba s DFNB1 su bolesni homozigoti ili složeni heterozigotni nositelji mutacija u GJB2 genu. Prvi korak u dijagnostici je PCR radi dokazivanja najčešće mutacije 35delG, a zatim analiza sekvenciranjem egzona 2 gena GJB2, te dodatno sekvenciranje egzona i nekodirajućih regija istoga gena.²⁹

Oko 2% osoba s DFNB1 ima u svom genotipu na jednom alelu GJB2 mutaciju, a na drugom veliku deleciju koja uključuje i dio GJB6 gena, što znači da su složeni heterozigoti. Del Castillo i sur.³⁰ našli su da u populaciji južne Europe oko trećina gluhih osoba heterozigotnih za GJB2 mutaciju na drugom alelu ima i ovu deleciju. Novi načini korištenja kombinacije PCR i sekvenciranja omogućuju istodobnu analizu gena GJB2 i GJB6, što doprinosi brzini i pojednostavljenju dijagnoze. Ako je u gluhe osobe dijagnosticirana samo jedna GJB2 mutacija, a isključeno postojanje delecije koja uključuje dio GJB6 gena, može se raditi o drugoj vrsti gluhoće, uz slučajno prisutno nositeljstvo mutacije u GJB2 genu.²⁹

U osoba u kojih se sumnja na autosomno recesivni oblik gluhoće, gdje nije identificirana mutacija u GJB2 genu, preporuča se tankoslojna kompjutorizirana tomografija temporalnih kostiju. Za malformacije temporalne kosti, povećan ili proširen vestibularni akvedukt i displaziju pužnice Mondini, opravdano je daljnje genetsko testiranje zbog identifikacije moguće mutacije u SLC26A4 genu.

Novorođenački probir sluha metodom evocirane otoakustičke emisije (E-OAE)

Novorođenački probir je preventivni medicinski postupak kojemu je cilj rano otkrivanje djece zahvaćene stanjima koja ugrožavaju njihov život i dugoročno zdravlje, a čije liječenje može smanjiti morbiditet i mortalitet. Bolest se tako može otkriti u fazi kada još ne postoje sigurni simptomi i/ili znaci njena postojanja.³¹ Novorođenački probir na oštećenje sluha počeo se razvijati prije četrdesetak godina, a 80-tih godina prošlog stoljeća u Sjedinjenim Američkim Državama uveden je kao obavezna metoda. Američki zavod za javno zdravstvo utemeljio je 1990. godine projekt »Zdrav narod 2000« (»Healthy People 2000«), prema kojem se oštećenje sluha mora otkriti najkasnije do navršene prve godine života.³² Cilj metode E-OAE je otkriti što više djece ili svu djecu s oštećenim sluhom. Na svaki zvučni podražaj pužnica reagira zvukom, tzv. ehom, koji nazivamo otoakustička emisija (OAE), koja se može zabilježiti osjetljivim mikrofonom postavljenim u zvukovod (*slika 1*). Zvukovi otoakustičke emisije pokazatelj su strukture pužnice i indirektno mjerilo funkcije vanjskih slušnih stanica, što znači da ovom metodom možemo ustanoviti oštećenje, ali ne i stupanj gubitka sluha.³³

Postoje dvije vrste otoakustičke emisije koje se međusobno razlikuju po signalima koje proizvode.³³ *Spontane emisije* – to su signali pojedinačnih ili višestrukih frekvencija koje proizvodi pužnica u odsutnosti slušnog



Slika 1. Prikaz ispitivanja sluha u novorođenčeta metodom evocirane otoakustičke emisije

Figure 1. Audiologic screening by evoked otoacoustic emission in newborn

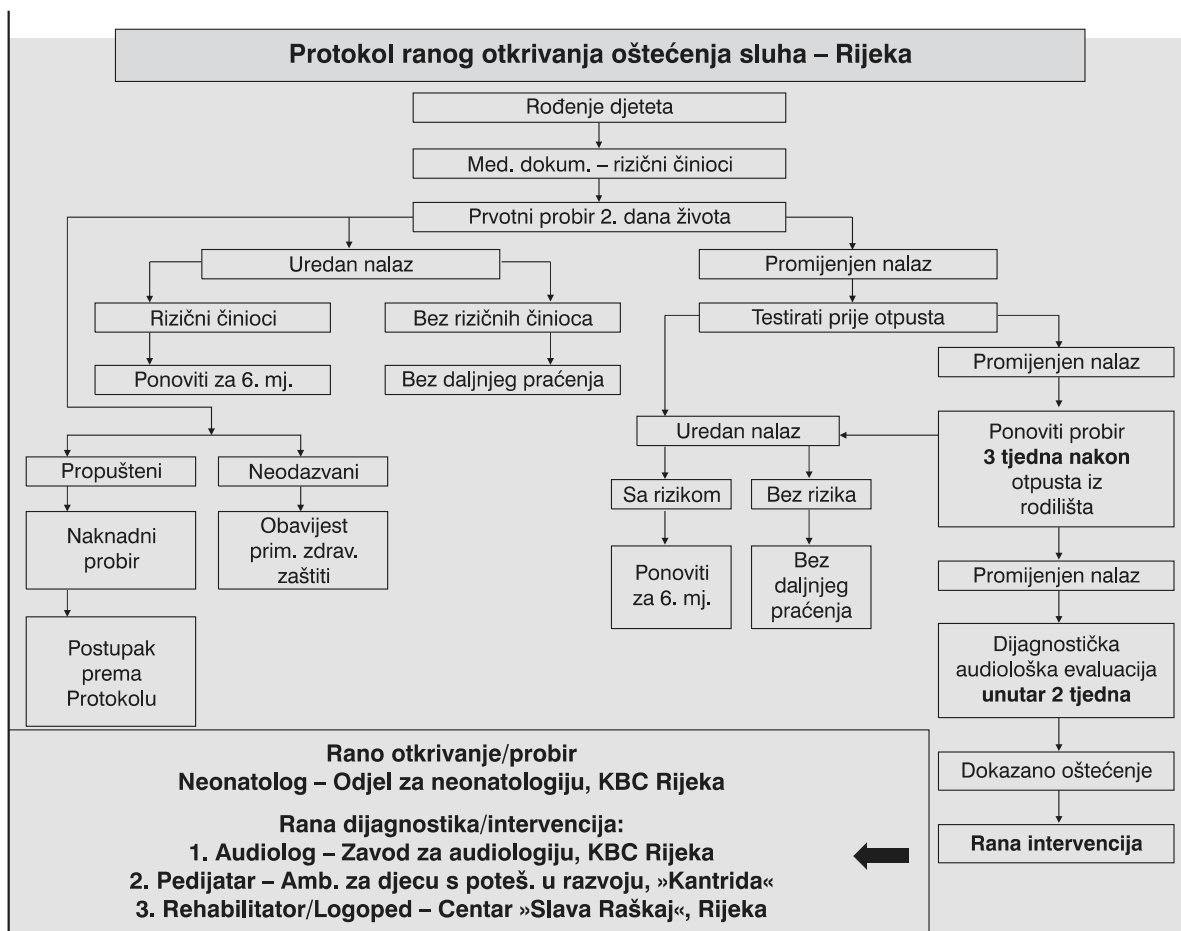
podražaja. Normalno uho proizvodi ih u 50% slučajeva. *Evocirane ili izazvane otoakustičke emisije (E-OAE)* – nastaju kao spontani odgovor na vanjski slušni podražaj bez aktivnog sudjelovanja djeteta. Najčešće se koristi kratki podražaj klika od 100 mikrosekundi. Ako je gubitak sluha na svim frekvencijama veći od 30 dB, odgovora nema.

Znajući da je većina slušnih oštećenja lokalizirana u pužnici, metoda E-OAE je usvojena kao jedinstveni test za novorođenački probir oštećenja sluha. Djeca u koje se metodom E-OAE postavi sumnja na oštećenje sluha, upućuju se na daljnju dijagnostičku neinvazivnu metodu – automatsko bilježenje evociranih potencijala moždanog debla (engl. »Automated Auditory Brainstem Response« – A-ABR). Ovom pretragom dobiva se odgovor pužnice, slušnog živca i struktura moždanog debla, a dodatna joj je prednost što nije osjetljiva na mehaničke zapreke u zvukovodu i srednjem uhu.³³

Potreba za ranim otkrivanjem oštećenja sluha prisutna je duže vrijeme i u Hrvatskoj. Iako na nacionalnom nivou ne postoji jedinstveni program koji bi objedinio rano otkrivanje oštećenja sluha s dijagnostikom i liječenjem, uvođenjem metode novorođenačkog probira na oštećenje sluha u naša rodilišta označen je početak ranog otkrivanja i uključivanja ove djece u programe rehabilitacije. Od 2002. u svim rodilištima u Hrvatskoj počeo se provoditi »Sveobuhvatni probir novorođenčadi na oštećenje sluha« metodom E-OAE.³⁴ Ovakav sustavni probir novorođenčadi provodi se u Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC-a Rijeka od listopada 2002. godine (*slika 2.*).³⁵ Novorođenčad s patološkim nalazom poziva se nakon tri tjedna na dodatno ponovno ispitivanje sluha, primjenom iste metode. Ukoliko je nalaz i dalje promijenjen, dijagnoza oštećenja sluha postavlja se dalje primjenom evociranih slušnih potencijala moždanoga debla u Zavodu za audiologiju i rehabilitaciju sluha i govora KBC-a Rijeka.³⁵

Važnost molekularno-genetske analize

U kliničkoj praksi sve se češće savjetuje testiranje gluhih na mutaciju koneksina-26, jer je ona pronađena i



Slika 2. Protokol ranog otkrivanja oštećenja sluha u Kliničkom bolničkom centru Rijeka³⁵
Figure 2. Algorithm of early hearing impairment detection in Clinical Hospital Centre Rijeka³⁵

u osoba bez pozitivne obiteljske anamneze. Razvojem molekularne dijagnostike pruža se mogućnost individualnog utvrđivanja etiologije gluhoće svakog ispitanika, a njihovim obiteljima i precizno genetsko savjetovanje. U današnje vrijeme molekularna analiza je postala rutinski postupak u dijagnozi, diferencijalnoj dijagnozi i genetskoj evaluaciji osoba oštećenog sluha. Molekularno testiranje danas je moguće za veliki broj gena, no u kliničkoj praksi nije u potpunosti zaživjelo zbog velikog broja mogućih genskih mutacija i zbog toga što neke od njih rijetko uzrokuju oštećenje sluha. Nasuprot tome, zbog velike prevalencije mutacija u koneksinskim genima GJB2 i GJB6, njihovo je testiranje šire prihvaćeno, uz moguće uključivanje u postupnike ranog otkrivanja i dijagnostike slušnog oštećenja.^{36–38}

Zaključak

Kombinacija audiološkog i molekularnog pristupa u ranoj dijagnostici prirodene gluhoće pokazala se komplementarnom i znanstveno korisnom, a praktički primjenjivom. Audiološki probir omogućio je ostvarenje prvog glavnog principa kvalitetnog probira: pozitivnu dijagnostiku, sveobuhvatnu, radi čim ranije intervencije. Molekularna evaluacija omogućila je etiološku dija-

gnostiku i u velikoj mjeri zaobilaznje prepreka genetske heterogenosti. Na individualnoj razini, kombinacija audiološke i molekularne dijagnostike znači da gluho novorođenčeta i njegova obitelj dobivaju mogućnosti rane rehabilitacije, mogućnost informativnog genetičkog savjetovanja i procjene rizika pojave iste smetnje u obitelji, mogućnost prognoziranja daljnjeg razvoja gluhoće, tj. težine kliničke slike, a također i konkretnu opravdanost operativnog zahvata. Osim toga, moguće je izbjeći dodatne agresivne i škodljive pretrage koje su inače bile potrebne u dijagnostičkoj evaluaciji gluhoće, te sigurnost isključivanja bolesti drugih organskih sistema u novorođenčeta, tipičnih za gluhoću, kao posljedicu drugih mutacija.

Literatura

1. Chu K, Elimian A, Barbera J, Ogburn P, Sitzer A, Quirk JG. Antecedents of newborn hearing loss. *Obstet Gynecol* 2003; 101:584–8.
2. Rossi G. Normal hearing, loss of hearing and general occupational disability. *Acta Otorinolaryngol Ital* 1990;10:181–6.
3. Morton N. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann NY Acad Sci* 1991;630:16–31.

4. Joint Committee on Infant Hearing: Year 2000 position statement: Principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *Pediatrics* 2000;106:798–817.
5. Lim DJ, Kalinec F. Cell and molecular basis of hearing. *Kidney Int* 1998;65(Suppl. 1.):104–13.
6. Paparella MM, Fox RY, Schachern PA. Diagnosis and treatment of sensorineural hearing loss in children. *Otolaryngol Clin North Am* 1989;22:51–74.
7. Wen LZ, Xing W, Liu LQ, Ao LM, Chen SH; Zeng WJ. Citomegalovirus infection in pregnancy. *Int J Gynecol Obstet* 2002;79:111–6.
8. Kawashiro N, Tsuchihashi N, Koga K et al. Delayed post neonatal intensive care unit hearing disturbance. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1996;34:35–43.
9. Scott MRJ, Griffiths MV. A clinical review of ototoxicity. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1994;10:271–7.
10. Fortnum HM. Hearing impairment after bacterial meningitis. *Arch Dis Child* 1992;67:1128–33.
11. Mhatre AN, Lalwani AK. Molecular genetics of deafness. *Otolaryngol Clin North Am* 1996;29:421–35.
12. Friedman TB, Griffith AJ. Human nonsyndromic sensorineural deafness. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2003;4:341–402.
13. Roizen NJ, Wolters C, Nicol T, Blondis TA. Hearing loss in children with Down syndrome. *J Pediatr* 1993;123(Suppl. 1.):9–12.
14. Morton C. Genetics, genomics and gene discovery in the auditory system. *Hum Mol Genetics* 2002;11:1229–40.
15. Steel KP. New interventions in hearing impairment. *Br Med J* 2000;32:622–5.
16. Teubner B, Micher V, Pesch J, Lautermann J, Winterhager E, Herbenhold C et al. Connexin30 (GJB6)-deficiency causes severe hearing impairment and lack of endocochlear potential. *Hum Mol Genet* 2003;12:13–21.
17. Zelante L, Gasparini P, Estivill X, et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DF-NB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 1997;6:1605–9.
18. Antoniadi T, Pampanos A, Petersen MB. Prenatal diagnosis of prelingual deafness: carrier testing and prenatal diagnosis of the common GJB2 35delG mutation. *Prenat Diagn* 2001;21:10–3.
19. Barišić I, Sansović I, Knežević J, Pavelić J. Genetički uzroci oštećenja sluha. *Pediatr Croat* 2004;48(Suppl. 1.):123–30.
20. Guilford P, Ben Arab S, Blanchard S et al. A non-syndromic form of neurosensory recessive deafness maps to the pericentric region of chromosome 13q. *Nat Genet* 1994;6:24–8.
21. Kumar NM, Gilula NB. The gap junction communication channel. *Cell* 1996;84:381–8.
22. Scott DA, Kraft ML, Carmi R et al. Identification of mutations in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum Mutat* 1998;11:387–94.
23. Kelley PM, Harris BC, Comer JW et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet* 1998;62:792–9.
24. Gasparini P, Rabionet R, Barbujani G et al. The Genetic Analysis Consortium of GJB2 35delG. High carrier frequency of the 35delG deafness mutation in Europe populations. *Eur J Hum Genet* 2000;8:19–23.
25. Green GE, Scott DA, McDonald JM, Woodworth GG, Sheffield VC, Smith RJ. Carrier rates in the midwestern United States for GJB2 mutations causing inherited deafness. *JAMA* 1999;281:2211–6.
26. Kudo T, Ikeda K, Kure S et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *Am J Med Genet* 2000;90:141–5.
27. Barišić I, Marn B, Knežević J, Sansović I, Petković G, Pavelić J. Gluhoća – etiologijski čimbenici i dijagnostički postupnik. *Pediatr Croat* 2004;48(Suppl. 2.):11–7.
28. Maxon AB, White KR, Behrens TR et al. Referral rates and cost efficiency in a universal newborn hearing screening program using transient evoked otoacoustic emissions. *J Am Acad Audiol* 1995;6:271–7.
29. Simsek M, Al-Wardy N, Al-Khabory M. A polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) test to detect the common mutation (35delG) in the connexin-26 gene. *Med Sci* 2001;1:9–12.
30. Del Castillo I, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, et al. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing-impaired subjects: a multicenter study. *Am J Hum Genet* 2003;73:1452–9.
31. American Academy of Pediatrics, Committee on Genetics. Newborn screening Fact Sheets. *Pediatrics* 1996;98:473–501.
32. US Public Health people 2000: National health and disease prevention objectives. Washington, DC: Public Health Service, US Dept of Health and Human Services 1990.
33. Folsom RC, Diefendorf AO. Physiologic and behavioral approaches to pediatric hearing assessment. *Pediatr Clin North Am* 1999;46:107–20.
34. Marn B. Prvi model sveobuhvatnog probira na oštećenje sluha u novorođenčadi u Hrvatskoj. *Pediatr Croat* 2000;1–2:77–9.
35. Mahulja-Stamenković V. Probir novorođenčadi na oštećenje sluha. Magistarski rad. Rijeka: Medicinski fakultet; 2004.
36. Zaputović S, Štimac T, Prpić I, Mahulja-Stamenković V, Medica I, Peterlin B. Molecular analysis in diagnostic procedure of hearing impairment in newborns. *Croat Med J* 2005;46:797–800.
37. Medica I, Rudolf G, Prpic I, Stanojevic M, Peterlin B. Incidence of the del35G/GJB2 mutation in Croatian newborns with hearing impairment. *Med Sci Monit* 2005;11:CR533–5.
38. Brajnović-Zaputović S. Klinički i genetički probir na prirodenu gluhoću. Doktorska disertacija. Sveučilište u Rijeci. Rijeka: 2006. Doktorska disertacija.

Članak primljen: 2. 02. 2007.; prihvaćen: 13. 03. 2007.

Adresa autorice: Dr.sc. Sanja Zaputović, dr.med., Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Rijeka, Istarska 43, 51 000 Rijeka, Hrvatska, e-mail: lukaz@medri.hr