

Tematski rad
Main theme

Medicina 2004;42(41): 310-312
UDK: 616.28-008.14:575.224.2

MUTACIJE U GENU GJB2/CONNEXIN 26 KAO NAJČEŠĆI UZROK OSLABLJENOG SLUHA

MUTATIONS IN GENE GJB2/CONNEXIN 26 AS THE MOST FREQUENT CAUSE OF IMPAIRED HEARING

Igor Medica¹, Manuela Balaban¹, Igor Prpić², Sanja Zaputović², Saša Ostojić³, Miljenko Kapović³, Herman Haller², Borut Peterlin⁴

SAŽETAK

Zbog svoje učestalosti i potrebe za ranom dijagnozom, oslabljeni je sluh epidemiološki i javnozdravstveni problem. Mutacija del35G u GJB2 genu najčešći je uzrok genetski uzrokovane gluhoće, a vizualizira se PCR-metodom. Uvođenje analize mutacije u dijagnostički algoritam oslabljenog sluha omogućuje brzu, preciznu i etiološku dijagnozu, a i informativno genetičko savjetovanje. Ispitivanjem hrvatske populacije iz Istarske i Primorsko-goranske županije, mutacija je nađena u 36% osoba oslabljenog sluha, slično do sada ispitivanim populacijama ustanovljena je incidencija mutacije u populaciji novorođenčadi od 1/1091 (95CI: 1/372 – 1/3205).

KLJUČNE RIJEČI: gluhoća, GJB2 mutacije

ABSTRACT

Due to its frequency and the implications of early detection, hearing impairment has become an important epidemiological and public health care problem. Del35G/GJB2 mutation is the most common cause of genetic deafness, visualized by the PCR method. The mutation analysis has been successfully introduced in the diagnostics of deafness, and it enables fast, precise and etiologic diagnosis, as well as informative genetic counselling. The study of the Croatian population from the counties of Istria and Primorje-Gorski kotar revealed that the del35G mutation is involved in 36% of hearing impaired subjects; the incidence of the mutation in the population of newborns being 1/1091 (95CI: 1/372 – 1/3205).

KEY WORDS: deafness, GJB2 mutations

GLUHOĆA I GENETIKA

Gubitak sluha koji će zahtijevati medicinsku intervenciju poradi poboljšanja komunikacije ustanovi se u 1/1000 novorođene djece.¹ U 50% slučajeva, i više, uzrok je genetski, i može biti tek sastavni dio sindroma (Usher, Pendred, Jervell, Lange-Nielsen sindrom), ili samostalni entitet: 80% genetskog oštećenja sluha je nesindromsko, nasljedivo po autosomno recesivnom tipu.² Nakon uvođenja otoakustičke emisije u novorođenački probir, omogućena je rana dijagnostika oslabljenog sluha, koja

podrazumijeva i uspješniju rehabilitaciju. Problem utvrđivanja etiologije, a time i prognoze i informativnoga genetičkog informiranja, u velikom dijelu rješava uvođenje molekularno-genetičkih tehnika u dijagnostiku oštećenja sluha.³ Identifikacija gena čije mutacije dovode do oštećenja sluha, bila je otežana zbog genetičke i kliničke heterogenosti gluhoće.² Metodama pozicijskog kloniranja, velik je broj genetičkih lokusa povezivih s nesindromskom recesivno nasljeđujućom gluhoćom (NRG) lokalizirano u zadnjih desetak godina, više od 50.⁴ Najvažniji je među njima – jer je poveziv s čak 50% NRG-a – lokus DFN1 na 13. kromosomu, u kojemu je identificiran gen GJB2 koji kodira protein connexin 26.^{5,6} Među mutacijama u ovom genu, kao najčešća ističe se delecija jednoga gvanina iz serije od šest u kodirajućoj regiji gena (del35G), koja je u raznim do sada ispitivanim populacijama indoeuropskog podrijetla nađena kao uzrok NRG-a u čak 80%.⁵⁻⁹ Velika

Ustanova: ¹Specijalistička pedijatrijska ordinacija, Pula, ²Klinika za ginekologiju i porodništvo, KBC Rijeka, ³Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, ⁴Služba za medicinsku genetiku, Klinika za ginekologiju i porodništvo, KC Ljubljana

Prispjelo: 15. 9. 2004.

Prihvaćeno: 6. 10. 2004.

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. Igor Medica, dr. med., Specijalistička pedijatrijska ordinacija, Istarska 13, 52100 Pula. Tel./faks (052) 223 222. e-mail igor.medica@pu.htnet.hr

učestalost mutacije i mogućnost njezine vizualizacije molekularno genetičkim tehnikama,¹⁰ čine NRG jednom od niza monogenih bolesti čija se dijagnostika danas zasniva ponajprije na molekularno-genetičkim metodama. Velika učestalost mutacije del35G u općoj populaciji (druga najčešća mutacija u općoj populaciji nakon delta F508), čine je intrigantnom za populacijsko-genetička ispitivanja.

MOLEKULARNA GENETIKA MUTACIJA GJB2

Unatrag deset godina, temeljem studija konsangvinih obitelji različitog etničkoga podrijetla, mapiran je DFNB1 lokus i njegova povezanost s NRG-om,¹¹ a zatim je identificiran gen GJB2 i njegove mutacije te njihova povezanost s NRG-om.⁵ Kodirajuća sekvenca GJB2 gena sastoji se od 681bp i prevodi se u protein od 226 aminokiselina. Mutacija del35G je *hot spot* mutacija vjerojatno 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.¹² Mutacija del35G delecija je jednog od šest gvanina koji se nalaze u slijedu na poziciji 30–35. Uz tu mutaciju, otkriven je još velik broj drugih mutacija u genu – sveukupno četrdesetak, minornoga kliničkog i epidemiološkog značenja.^{2,4,12} Vizualizacija mutacije osniva se na PCR alel specifičnoj metodi u kojoj se uz upotrebu različitih klica na istom DNA-materijalu uspije različito amplificirati DNA, ovisno o tome sadrži li ili ne sadrži mutaciju.¹⁰

POPULACIJSKA GENETIKA MUTACIJE DEL35G

Nakon identifikacije gena, uslijedilo je utvrđivanje učestalosti njegovih mutacija u raznim etničkim i nacionalnim studijama – studije mediteranskih naroda, tj. osoba oslabljenog sluha talijanskog, španjolskog, portugalskog, francuskog, ali i alžirskog, tuniskog i libanonskog podrijetla, studije gluhih osoba iz Velike Britanije, Novog Zelanda i Australije, američke studije, studije populacija iz sjeverne i srednje Afrike te studije Izraelaca.^{6-9,13-15} U svim tim studijama nađena je mutacija del35G u homozigotnom statusu kao najčešći uzrok gluhoće. Za izraelsku populaciju (Aškenazi) utvrđena je druga česta mutacija, klinički i epidemiološki značajna: 167delT.¹⁶ U studijama populacija gluhih iz Japana, Kine i Koreje nije nađena del35G kao najčešći uzrok gluhoće.¹⁷⁻¹⁹ Učestalost mutacija u GJB2 genu kao uzroku NRG-a, izračunata je kao 14/100 000.² Istodobno je ustanovljena visoka učestalost od 2,5% mutacije del35G u heterozigotnom statusu u općoj populaciji, što je postavilo pitanje izvora te mutacije: analize haplotipa isključile su efekt osnivača kao uzrok visoke prevalencije prenositelja mutacije.^{13,16,20} Studije koje su uzele u

obzir sociološki pristup, takvu visoku frekvenciju objašnjavaju time što su u nekim sredinama u prošlosti izrazito česti bili brakovi samo između gluhih osoba.

KLINIČKA GENETIKA MUTACIJE DEL35G

Oštećenje sluha uzrokovano mutacijama u GJB2 genu očituje se različitim intenzitetom. Različita ispitivanja ustanovila su oštećenja sluha od blagog i umjerenog do teškog. Dijelom su te razlike posljedica nedovoljne standardizacije u izvještavanju, a one se odnose i na razlike u izvještavanju o asimetriji i progresiji smetnji.²¹⁻²³ Međutim, nema dvojbe o tome da sve osobe oštećenog sluha uzrokovano tim mutacijama nemaju drugih, pridruženih simptoma ili popratnih pridruženih bolesti. Nije pronađena udruženost pojedine mutacije s intenzitetom oštećenja sluha čak ni unutar iste obitelji. Velik broj kliničkih studija omogućuje ipak uopćavanje: oštećenje sluha je prelingualno i značajno, varijabilnog je intenziteta – od umjerenog do teškog, motorički razvoj djece redovito je uredan, oštećenje sluha je najčešće obostrano i neprogresivno.

Povezivanje novorođenačkog probira na gluhoću otoakustičkom emisijom i molekularnog dijagnosticiranja mutacija, omogućuje danas ne samo ranu dijagnozu za dijete već i značajnu informaciju roditelju i genetičaru. Utvrđivanje genotipa omogućuje približnu prognozu: većina ispitanika imat će teže oštećenje sluha. Omogućit će i precizno utvrđivanje rizika ponavljanja oštećenja sluha u budućih potomaka roditelja djeteta s utvrđenim genotipom. Klinička ispitivanja rehabilitacije sluha nakon kohlearnog implanta pokazala su najbolje rezultate upravo u djece čije je oštećenje sluha uzrokovano mutacijama u genu, što pridonosi važnosti detekcije mutacije i u terapijskom smislu.²⁴

Uvođenje molekularno-genetičkog testa u dijagnostički algoritam oštećenja sluha i utvrđen pozitivan rezultat na mutaciju u homozigotnom statusu, omogućuje etiolozku/definitivnu dijagnozu i isključuje druge, sada već nepotrebne, skupe ili agresivne/štetne pretrage.

ISPITIVANJE MUTACIJE U HRVATSKOJ

Unatrag dvije godine, u okviru programa uvođenja molekularno-genetičkih tehnika u rutinsku dijagnostiku monogenih bolesti, Upravnog odjela za zdravstvo Istarske županije, a u suradnji s ljubljanskom Službom za medicinsku genetiku Ginekološke klinike KC, provodi se i ispitivanje mutacije del35G u GJB2 genu u osoba oštećenog sluha iz Istre i Primorsko-goranske županije, uključujući novorođenčad oštećenog sluha ustanovljenog novorođenačkim probirom otoakustičkom emisijom. U skupini do sada molekularno ispitanih osoba s oštećenjem sluha iz prelingualne faze razvoja, mutacija

je ustanovljena u 36% ispitanika. Izračunata incidencija mutacije u novorođenčadi je 1/1091 (95CI: 1/372 – 1/3205), značajno viša od očekivane. Ustanovljena je značajna uloga mutacije u skupini kongenitalne gluhoće, još veća nego u skupini prelingualne gluhoće. Preporučili smo uključanje molekularnog ispitivanja del35G u sastavni dio novorođenačkog probira ako se otoakustičkom emisijom i evociranim slušnim potencijalima ustanovi gluhoća.²⁵ U tijeku je priprema ispitivanja učestalosti del35G u heterozigotnom statusu u općoj populaciji.

LITERATURA

- Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 630: 16-31
- Smith RJH, Van Camp G. Hereditary Hearing Loss Homepage. 2004 World Wide Web URL: (<http://dnalab-www.uia.ac.be/dnalab/hhh/>)
- Cohn ES, Kelley PM. Clinical phenotype and mutations in connexin 26 (DFNB1/GJB2), the most common cause of childhood hearing loss. *Am J Med Genet* 1999; 89: 130-136
- Avraham K, Davis N. GeneDis. Human Genetic Disease Database Homepage. 2003 World Wide Web URL: (<http://life2.tau.ac.il/GeneDis/>)
- Kelsell DP, Dunlop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. *Nature* 1997; 387: 80-83
- Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 729-799
- Denoyelle F, Weil D, Maw MA, Wilcox SA, Lench NJ, Allen-Powell DR et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2173-2177
- Estivill X, Fortina P, Surrey S, Rabionet R, Melchionda S, D'Agruma I et al. Connexin-26 mutations in sporadic and inherited sensorineural deafness. *Lancet* 1998; 351: 394-398
- Zelante L, Gasparini P, Estivill X, Melchionda S, D'Agruma L, Govea N et al. Connexin 26 mutations associated with the most common form of non-syndromic neurosensory autosomal recessive deafness (DFNB1) in Mediterraneans. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1605-1609
- Scott DA, Kraft ML, Carmi R, Ramesh A, Elbedour K, Yairi Y et al. Identification of mutation in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Human Mutation* 1998; 11: 387-394
- Guliford P, Ben Arab S, Levilliers J, Weissenbach J, Belkhaia A, Petit C. A non-syndromic form of neurosensory deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. *Nature Genet* 1994; 6: 24-28
- McKusick VA. Online Mendelian Inheritance in Man Homepage. 2004 World Wide Web URL: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>)
- Carrasquillo MM, Zlotogora J, Barges S, Chakravarti A. Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating nonsyndromic recessive deafness: implications for genetic studies in isolated populations. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2163-72
- Brobby GW, Muller-Myhsok B, Horstmann RD. Connexin 26 R143W mutation associated with recessive nonsyndromic sensorineural deafness in Africa. *N Engl J Med* 1998; 338: 548-50
- Lench NJ, Markham AF, Mueller RF, Kelsell DP, Smith RJ, Willems PJ et al. A Moroccan family with autosomal recessive sensorineural hearing loss caused by a mutation in the gap junction protein gene connexin 26 (GJB2). *J Med Genet* 1998; 35: 151-2
- Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ, Gotorth L, Friderici K, Fisher R et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. *N Engl J Med* 1998; 339: 1500-1505
- Abe S, Usami S, Shinkawa H, Kelley PM, Kimberling PM. Prevalent connexin 26 gene (GJB2) mutations in Japanese. *J Med Genet* 2000; 37: 41-43
- Yuhe L, Xiaomei K, Yu Q, Wei L, Ping Z. Connexin 26 gene (GJB2): prevalence of mutations in the Chinese population. *J Hum Genet* 2002; 47: 688-90
- Kudo T, Ikeda K, Kure S, Matsubara Y, Oshima T, Watanabe K et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) responsible for childhood deafness in the Japanese population. *J Med Genet* 2000; 90: 141-5
- 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
- Cohn ES, Kelley PM, Fowler TW, Gorga MP, Lefkowitz DM, Kuehn HJ et al. Clinical studies of families with hearing loss attributable to mutations in the connexin 26 gene (GJB2/DFNB1). *Pediatrics* 1999; 103: 546-50
- Denoyelle F, Marlin S, Weil D, Moatti L, Chauvin P, Garabedian EN et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin 26 gene defect: implications for genetic counseling. *Lancet* 1999; 353: 1298-303
- Gualandi F, Ravani A, Berto A, Sensi A, Trabaneli C, Falciano P et al. Exploring the clinical and epidemiological complexity of GJB2-linked deafness. *Am J Med Genet* 2002; 112:38-45
- Green GE, Scott DA, McDonald JM, Teagle HF, Tomblin BJ, Spencer LJ et al. Performance of cochlear implant recipients with GJB2-related deafness. *Am J Med Genet* 2002; 109: 162-170
- Medica I, Rudolf G, Balaban M, Prpić I, Stanojevic M, Peterlin B. Implications of del35G/GJB2 mutation analysis in evaluation of hearing impairment. *Eur J Hum Genet* 2004; 12 (suppl)